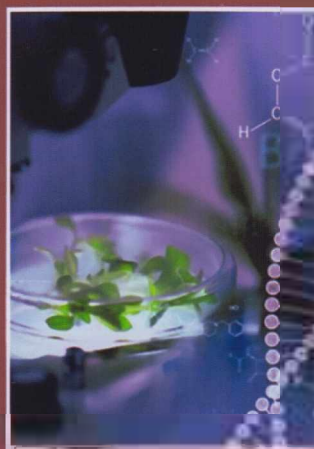
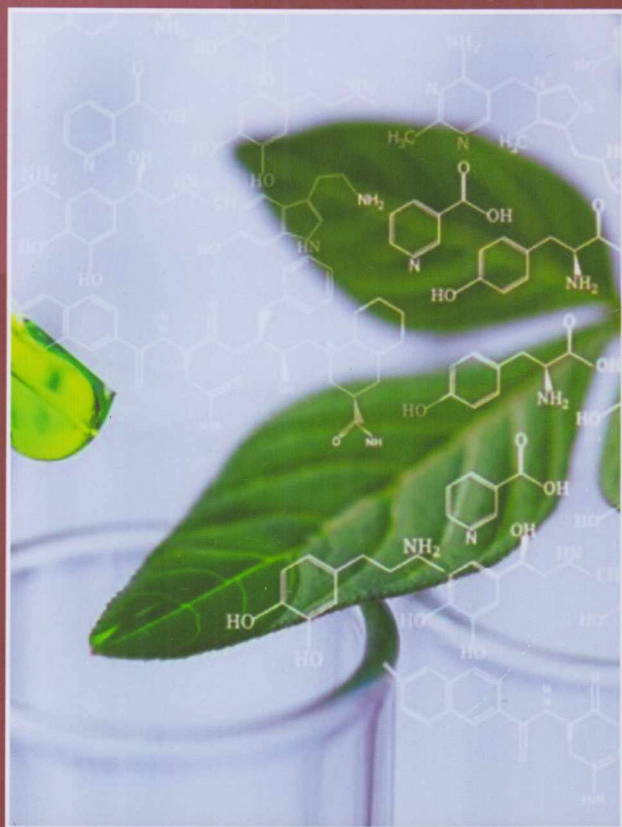


FARMATSEVTIK BIOTEXNOLOGIYA

FANIDAN AMALIY MASHG'ULOTLAR



N. FARMANOV, A.A. XOLIKOV, G'M. QULDOSHEV,
S.J. MUXAMMATOVA, SH.A. CHALABOYEV

SAMARQAND

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY TA'LIM FAN VA
INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI**

**SAMARQAND DAVLAT VETERINARIYA MEDITSINASI,
CHORVACHILIK VA BIOTEXNOLOGIYALAR
UNIVERSITETI**

**N.FARMANOV, A.A.XOLIKOV, G'M.QULDOSHEV,
S.J.MUXAMMATOVA, SH.A.CHALABOYEV**

FARMATSEVTIK BIOTEXNOLOGIYA FANIDAN AMALIY MASHG'ULOTLAR

O'QUV QO'LLANMA

O'zbekiston Respublikasi oliy, ta'lim fan va innovatsiyalar vazirligi
tomonidan 60840200 – Veterinariya farmatsevtikasi ta'lim yo'nalishi
uchun amaliy mashg'ulotlarini o'tkazish bo'yicha o'quv qo'llanma
sifatida tavsiya etilgan

SAMARQAND-2026

UO'K: 615.2:677.0(075)

F 25

KBK: 52.81:30.16ya73

**N.Farmanov, A.A.Xolikov, G'M.Quldoshev, S.J.Muxammatova,
Sh.A.Chalaboyev.**

Farmatsevtik biotexnologiya fanidan amaliy mashg'ulotlar
[Matn]: o'quv qo'llanma / SamDVMCHBU – Samarqand.: "STEP-SEL"
MCHJ nashriyoti, 2026 – 160 bet.

Mazkur o'quv qo'llanma "60840200-Veterinariya farmatsevtikasi" ta'lim yo'nalishi bo'yicha bakalavr tayyorlashda "Farmatsevtik biotexnologiya" fanini o'qitish rejalashtirilgan. O'quv qo'llanma DTS va na'munaviy dastur talablari darajasida bu fanlar tizimini "Farmatsevtik biotexnologiya" qismiga oid barcha amaliy ishlarini to'liq qamrab olgan. Ushbu o'quv qo'llanma 60 soatlik amaliy mashg'ulotlarni bajarishga mo'ljallangan bo'lib, unda 30 ta amaliy mashg'ulotlarning tavsifi berilgan. Farmatsevtik biotexnologiya fani dori vositalarini biotexnologik usullar yordamida olish, ularning tarkibi va xususiyatlarini o'rganish, dori moddalarining sifatini nazorat qilish, saqlash sharoitlarini aniqlash hamda yangi avlod biopreparatlarni yaratish qonuniyatlarini o'rgatishga qaratilgan. Ushbu fan biotexnologik jarayonlarda yuzaga kelishi mumkin bo'lgan xatoliklarni oldini olish, samarali va xavfsiz biotexnologik mahsulot ishlab chiqarilishini ta'minlash hamda amaliyotda qo'llash imkoniyatlarini kengaytirishga xizmat qiladi.

Taqrizchilar:

S.J.Yuldashev-Samarqand davlat tibbiyot universiteti Farmakologiya kafedrası mudiri, t.f.n., dotsent

N.Xadjayeva-SamDVMCHBU, "Biotexnologiya" kafedrası mudiri, b.f.n., dotsent.

O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligining 2026-yil 20-yanvardagi 6198-5069-6f05-66cb-b267-6891-7916-sonli ma'lumotnomasiga asosan 60840200 – Veterinariya farmatsevtikasi ta'lim yo'nalishi uchun amaliy mashg'ulotlarini o'tkazish bo'yicha o'quv qo'llanma sifatida tavsiya etilgan.

ISBN: 978-9910-225-78-9

© N.Farmonov va b. SamDVMCHBU. 2026 y.

© "STEP-SEL" MCHJ nashriyoti. 2026 y.

KIRISH

Bugungi kunda farmatsevtik biotexnologiya sohasida olib borilayotgan ilmiy izlanishlar va ishlab chiqarish jarayonlari tobora rivojlanib, dori vositalarining yangi, xavfsiz, samarali va arzon shakllarini yaratish imkonini bermogda. Zamonaviy biotexnologik korxonalar turli biologik faol moddalarni, jumladan, vaksinalar, antibiotiklar, gormonlar, fermentlar, monoklonal antitanalar va boshqa dorivor preparatlarni ishlab chiqishda muhim o'rin egallaydi. Farmatsevtik biotexnologiya fani dori vositalarining biotexnologik usullar orqali yaratilishi, ularning sifat ko'rsatkichlari, biologik faolligi va xavfsizligini ta'minlash jarayonlarini chuqur o'rganadi. Mutaxassis bo'lish yo'lida talaba nafaqat ishlab chiqarish jarayonlari, balki hujayra muhandisligi, genetik muhandislik, biokimyo va molekulyar biologiya asoslarini ham puxta egallashi zarur.

Mazkur o'quv qo'llanma kelajakdagi veterinary farmasevtlar mutaxassislarga biotexnologik mahsulotlar bilan ishlashda xavfsizlik qoidalariga rioya qilish, ularni to'g'ri saqlash va qo'llash, shuningdek, samarali ishlab chiqarish texnologiyalarini o'zlashtirishlariga yordam beradi.

Qo'llanmaning umumiy qismida biotexnologik jarayonlarning asosiy bosqichlari – xomashyo tayyorlash, mikroorganizmlar va hujayra kulturasi bilan ishlash, bioreaktor jarayonlari, mahsulotni ajratib olish va tozalash usullari bayon etilgan. Xususiyl qismida esa farmatsevtik amaliyotda keng qo'llaniladigan biotexnologik preparatlarning turlari, ularning farmakologik ahamiyati hamda amaliyl qo'llanishi haqida ma'lumotlar keltirilgan.

Mazkur o'quv qo'llanma talabalarga farmatsevtik biotexnologiya fanidan nazariyl bilimlarni amaliyl mashg'ulotlar bilan uyg'unlashtirib, zamonaviyl biotexnologiyanning farmatsevtika sohasidagi imkoniyatlarini chuqur o'rganishlariga xizmat qiladi.

I-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Biotexnologik dori vositalarining turlari va ularning tasniflanishi

Mashg'ulot maqsadi: amaliy mashg'ulot davomida talabalarga biotexnologik dori vositalari haqida umumiy tushuncha berish; Ularning tasnifi, ishlab chiqarish usullari va amaliy ahamiyatini o'rgatish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Biotexnologik dori vositalari bugungi kunda onkologiya, immunologiya, endokrinologiya kabi sohalarda eng dolzarb, yuqori texnologiyali dori vositalariga aylangan.

Ishning amaliy qismi

Biotexnologik dori vositalari (BDV) — bu tirik organizmlar, ularning hujayralari yoki genetik modifikatsiyalangan shakllari yordamida ishlab chiqarilgan yoki olingan dori moddalaridir. Biotexnologiya tibbiyotda yangi avlod dorilarini yaratish, aniq tashxis qo'yish va individual davolash imkoniyatlarini kengaytirgan soha hisoblanadi.

Biotexnologik dori vositalarining umumiy xususiyatlari - Biotexnologik dori vositalari an'anaviy kimyoviy sintez qilingan dori vositalaridan quyidagi xususiyatlari bilan farq qiladi: Manbasi: ***tirik organizmlar (bakteriyalar, zamburug'lar);***

Murakkab tuzilishga ega: *oqsillar, polipeptidlar, nuklein kislotalar;* Yuqori biologik faollikka ega; Saqlash va tashish sharoitlariga talab yuqori (sovuq zanjir); Immunogenlik darajasi mavjud.

Biotexnologik dori vositalarining tasnifi

I. Ishlab chiqarilish texnologiyasi bo'yicha:

Yo'nalish	Misollar
Rekombinant DNK texnologiyasi asosida olingan dorilar	insulin, eritropoetin, interleukinlar, interferonlar
Monoklonal antitanalar	trastuzumab, rituksimab, adalimumab
Gibridoma texnologiyasi asosida olingan preparatlar	Diagnostika va saraton kasalliklarini davolashda ishlatiladi
Fermentativ biotexnologiya mahsulotlari	asparaginaza, streptokinaza
DNK va RNK asosidagi terapiyaviy vositalar	Gen terapiyasi, RNA-interferensiya vositalari
Vaktsinalar va immunoterapiya vositalari	Genetik rekombinant vaktsinalar (masalan, HBV vaktsinasi)

II. Terapevtik yo'nalishi bo'yicha:

Yo'nalish	Misollar
Endokrin kasalliklar	Insulin, somatotropin
Onkologik kasalliklar	Monoklonal antitanalar, interleukinlar
Yurak-qon tomir kasalliklari	TPA (tissue plasminogen activator)
Autoimmun kasalliklar	Etanercept, infliximab
Yuqumli kasalliklar	Interferonlar, vaktsinalar
Gemopoetik tizim kasalliklari	Eritropoetin, G-CSF (filgrastim)

III. Molekulyar tuzilmasi bo'yicha:

Yo'nalish	Misollar
Oqsillar va polipeptidlar	insulinsimonlar, fermentlar
Glikoproteinlar	eritropoetin
Antitanalar	to'liq yoki fragment shaklida
Nuklein kislota asosidagi vositalar	DNK/RNK asosidagi dori moddalari

Biotexnologik dorilarning ishlab chiqarish bosqichlari

- Gen tanlash va klonlash
- Ekspressiya sistemasi yaratish
- Fermentatsiya va hujayra yetishtirish
- Protein ajratish va tozalash (purifikatsiya)
- Formulirovka va tayyor dori shakliga keltirish
- Yakuniy sifat nazorati va sertifikatlash

Amaliy qo'llanilishi va muhim vakillari

Dori nomi	Maqsadi	Ishlab chiqaruvchi
Insulin	Qandli diabet	Novo Nordisk, Sanofi
Rituksimab	Lymfoma, revmatoid artrit	Roche
Adalimumab (Humira)	Autoimmun kasalliklar	AbbVie
Eritropoetin (EPO)	Anemiya, buyrak yetishmovchiligi	Amgen
Trastuzumab (Herceptin)	Ko'krak bezi saratoni	Genentech

Nazorat uchun savollar

1. Biotexnologik dori vositalari deb nimaga aytiladi?
2. Biotexnologik dorilarning an'anaviy dorilardan farqi nimada?
3. Biotexnologik dori vositalari qanday manbalardan olinadi?
4. Rekombinant DNK texnologiyasi yordamida qaysi dorilar olinadi?
5. Monoklonal antitanalar nima va ular qanday kasalliklarda qo'llaniladi?

Test savollari:

1. Biotexnologik dori vositalariga quyidagilardan qaysi biri misol bo'la oladi?

- A) Paratsetamol
- B) Penitsillin

C) Insulin (rekombinant)

D) Analgin

2. Quyidagi texnologiyalardan qaysi biri orqali monoklonal antitanachalar olinadi?

A) Fermentatsiya

B) Gibridoma texnologiyasi

C) Distillatsiya

D) Adsorbsiya

3. Interferonlar qanday maqsadlarda ishlatiladi?

A) Yallig'lanishga qarshi

B) Antibakterial

C) Virusli kasalliklarni davolash

D) Og'riq qoldiruvchi

4. Quyidagi dori vositalaridan qaysi biri DNK rekombinatsiyasi orqali olinadi?

A) Amoksitsillin

B) Insulin

C) Loratadin

D) Aspirin

5. Eritropoetin preparati qanday ta'sir ko'rsatadi?

A) Antiviral

B) Qon ivishini kamaytiruvchi

C) Qizil qon tanachalarini ko'paytiruvchi

D) Og'riq qoldiruvchi

6. Biotexnologik vaktsinalarga misol keltiring:

A) BCG

B) Sputnik V

C) Pfizer/BioNTech RNK vaktsinasi

D) Pentoksifillin

7. Probiotiklar nima uchun qo'llaniladi?

A) Yurak faoliyatini kuchaytirish

B) O'pka kasalliklarini davolash

C) Ichak mikroflorasini tiklash

D) Gipertoniya davosi

8. Quyidagi birikmalardan qaysi biri ferment asosidagi biopreparat hisoblanadi?

- A) Streptokinaza
- B) Ibuprofen
- C) Loratadin
- D) Diazolin

9. Monoklonal antitanachalar asosan qaysi kasalliklar uchun qo'llaniladi?

- A) Diabet
- B) Osteoxondroz
- C) Onkologik va autoimmun kasalliklar
- D) Yuqumli ichki infeksiyalar

10. Biotexnologik dori vositalari ishlab chiqarishda asosiy ob'yekt nima hisoblanadi?

- A) Mineral xom ashyo
- B) Tirik organizmlar yoki ularning hujayralari
- C) Organik erituvchilar
- D) Noorganik tuzlar

2-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Mikroorganizmlarni steril sharoitda ekish texnikasi

Mashg'ulot maqsadi: amaliy mashg'ulot davomida talabalarga mikrobiologik amaliyotda eng muhim bosqichlardan biri bo'lgan steril sharoitda mikroorganizmlarni ekish texnikasini o'rgatish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Steril sharoitda ishlash mikrobiologiyada infeksiyon xavfni kamaytirish va natijalarning to'g'riligini ta'minlaydi. Barcha mikrobiologik, immunologik, farmatsevtik, klinik tekshiruvlarda mikroorganizmlarni toza holda ajratib olish steril ishni talab qiladi.

Nazariy qism

Sterillik — bu har qanday tirik mikroorganizmlar, spora va viruslarning yo'qligini ifodalaydi. Mikrobiologiyada steril sharoitda ishlash uchun quyidagi omillar zarur:

Yaxshi dezinfektsiyalangan ish joyi, steril jihoz va idishlar, harorat va vaqtga rioya etilgan sterilizatsiya, operatorning aseptik texnikaga qat'iy rioya qilishi

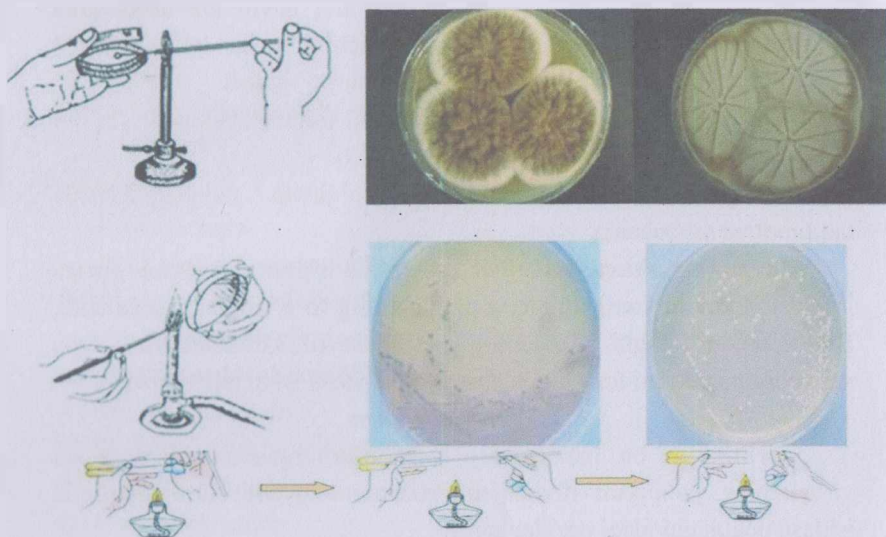
Mikroorganizmlarni ekish — bu ularni oziqa muhitiga ko'chirish jarayonidir. Ularni ko'paytirish, identifikatsiya qilish yoki antibakterial ta'sirni baholash. Ekish ikki xil bo'ladi: 1. Yuzaga ekish (qattiq muhitga) 2. Suyuq muhitga inokulyatsiya.

Jihoz va asboblari: Oziqa muhiti, steril idishlar, mikrob kulturasini, lampochka, ilgak, etanol, petri stakanlar (nutrientli agar bilan), probirkalar (suyuq muhit — meat-pepton bulyoni), steril inokulyatsion ilgak yoki pipetka, spirtidan va shishali idishlar.

Ishning bajarilishi:

1-tajriba. Ish stoli 70% etanol bilan tozalanadi, spirtli lampochka yoki bunsen lampasi yoqiladi. Inokulyatsion ilgak spirtida yoqiladi va sovutiladi. Mikrob koloniyasi steril sharoitda olinadi. Ilgak yordamida probirkaga yoki agar yuzasiga sepiladi (zig-zag yoki nuqta usulida)

Probirkalar qopqog'i qisqa ochiladi, ochiq holatda saqlanmaydi. Ekilgan namuna 37°C da 24–48 soatga inkubatsiya qilinadi.



2-tajriba. Usul - qabul qilinadigan mikroorganizmlarni petri idishiga solib, keyin taxminan 45°C ga qadar sovutilgan qattiq muhitga quyish, tez va muloyimlik bilan yaxshilab silkitib, bakteriya suyultirish maqsadiga erishish uchun. Plitalar qotib qolgandan va kerakli haroratda inkubatsiya qilingandan so'ng, alohida mikrob koloniyalari o'sishi mumkin.

Nazorat uchun savollar:

1. Steril sharoitda ishlashning ahamiyati nimada?
2. Inokulyatsion ilgak qanday sterilizatsiya qilinadi?
3. Ekishdan oldin qaysi tartibda ish stoli tayyorlanadi?
4. Qanday sharoitda va qancha muddatga inkubatsiya qilinadi?

Test savollari:

1. Mikrobiologik ish vaqtida nega steril sharoit muhim ahamiyatga ega?

- A) Tezroq natija olish uchun
- B) Barcha bakteriyalarni yo'q qilish uchun
- C) Tashqi muhitdan ifloslanishni oldini olish uchun
- D) Agar muhitining erishini ta'minlash uchun

2. Inokulyatsion ilgak qanday sterilizatsiya qilinadi?

- A) Issiq suvda qaynab
- B) Spirtga solib 10 daqiqa ushlab
- C) Spirtga ivitib, olovda qizdirib
- D) NaCl eritmasida yuvib

3. Mikroorganizmlarni ekish jarayoni nima deb ataladi?

- A) Inokulyatsiya
- B) Reanimatsiya
- C) Sterilizatsiya
- D) Antiseptiya

4. Petri stakanlar odatda qanday muhit bilan to'ldiriladi?

- A) Tuzli eritma
- B) Glukoza eritmasi
- C) Qattiq oziqa muhit (masalan, agar)
- D) Formalin eritmasi

5. Inkubatsiya sharoiti qanday bo'lishi kerak?

- A) 0°C da 1 hafta
- B) 25°C da 2 soat
- C) 37°C da 24–48 soat
- D) 100°C da 30 daqiqa

6. Mikrobiologik ish joyini tozalashda qaysi dezinfektsiyalovchi eng ko'p ishlatiladi?

- A) Spirt (70%)
- B) Suv
- C) Kaliy permanganat
- D) Yod eritmasi

7. Qanday holatda ekish jarayoni yaroqsiz hisoblanadi?

- A) Inokulyatsion ilgak issiq bo'lsa
- B) Petri stakan yopilmagan bo'lsa
- C) Probirkada namlik bo'lsa
- D) Muvozanatli haroratda saqlansa

8. Oziqa muhitiga mikroorganizmlarni ekishda qanday harakatlar bajariladi?

- A) To'liq to'ldirib qo'yiladi
- B) Ilgak bilan muhit yuzasiga zigzag usulida sepiladi
- C) Suyuqlik quyiladi
- D) Barmoq bilan surtiladi

9. Qaysi asbob mikroorganizmlarni ekish uchun ishlatiladi?

- A) Pichoq
- B) Inokulyatsion ilgak
- C) Termometr
- D) Sentifuga

10. Steril sharoitni ta'minlovchi asosiy manba bu:

- A) Suv hammomi
- B) Mikroskop
- C) Spirtli lampochka
- D) Germitsid chiroq

3-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Fermentlar faolligini aniqlash usullari

Mashg'ulot maqsadi: Talabalarda fermentlarning biologik faolligini aniqlashga oid asosiy tushunchalarni shakllantirish, laboratoriya sharoitida ferment faolligini aniqlash usullari bilan tanishtirish va amaliy ko'nikmalar hosil qilish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Fermentlar organizmda muhim metabolik reaksiyalarni tezlashtiruvchi biologik katalizatorlardir. Ularning faolligi fiziologik holat yoki kasallik holatida o'zgarishi mumkin. Shuning uchun ferment faolligini aniqlash–dori vositalari ta'sirini baholashda va biotexnologik ishlab chiqarishlarda muhim rol o'ynaydi.

Reaktivlar: Saxaroza manbai sifatida quritilib maydalangan achitqining 20% li filtrlangan eritmasidan foydalaniladi, kraxmalning yangi tayyorlangan 1 % eritmasi, saxarozaning 2% li eritmasi, o'yuvchi natriyning 10% li eritmasi, mis sulfatning 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar, pipetkalar, termostat yoki termometrli suv hammomi.

Nazariy qism:

Ferment faolligi –bu fermentning bir birlik vaqt ichida substratni mahsulotga aylantirish qobiliyatidir. Faollik fermentning konsentratsiyasi, harorat, pH, substrat miqdori kabi omillarga bog'liq. Ferment faolligi quyidagi usullar bilan aniqlanadi:

1.Spektrofotometrik usul-Ferment reaksiya vaqtida substrat yoki mahsulotning yutilishi (absorbsiya) o'zgarishini o'lchashga asoslangan. Masalan, laktatdehidrogenaza fermenti ishtirokida NADH ning UV da absorbsiya ko'rsatkichi o'zgaradi.

2.Kolorimetrik usul - Rang hosil qiluvchi substratlar yordamida ferment reaksiyasini baholash. Masalan, kislotali fosfatazaning p-nitrofenilfosfat substratini p-nitrofenolga aylantirish reaksiyasi.

3. Titrimetrik usul - Ferment reaksiyasi natijasida ajraladigan kislotali yoki ishqoriy mahsulotni titrlash orqali aniqlanadi. Misol uchun, ureaza fermenti orqali NH_3 ajralishi aniqlanadi.

4. Fluorimetrik usul - Ferment reaksiya davomida hosil bo'lgan yoki yo'qolgan moddalarning fluoresensiyasini o'lchashga asoslangan. Juda sezgir usul bo'lib, kichik miqdordagi fermentni aniqlashda qo'llaniladi.

Ishning bajarilishi:

1. Saxaroza eritmasi bilan Trommer reaksiyasi o'tkazilib, uni manfiy ekanligiga ishonch hosil qilinadi.

2. Ikkita probirka olinib, bittasiga 10 tomchi 1% li kraxmal eritmasi, ikkinchisiga 10 tomchi 2% li saxaroza eritmasi solinadi. Ikkala probirkaga 5 tomchidan suyultirilgan so'lak qo'shib, aralashtiriladi va 10-15 daqiqaga 37°C li termostatga qo'yiladi.

3. 10-15 daqiqadan so'ng ikkala probirka tarkibidagi suyuqliklar bilan Trommer reaksiyasi o'tkaziladi.

4. Substrat sifatida kraxmal saqlagan probirkaga mis gidrat oksidi qo'shilganda uni qaytarilgani kuzatiladi, bu esa kraxmalni a-amilaza ishtirokida parchalanganligini bildiradi.

5. Saxarozali probirkada mis gidroksidini qaytarilishi kuzatilmaydi. Bu saxarozani gidrolizlanmaganligini ko'rsatib, ayni vaqtda saxaroza a-amilazani spetsifik substrati emasligini tasdiqlaydi.

6. Saxarozaning spetsifikligini aniqlashda ikkita probirka olinib, bittasi 10 tomchi 1% li kraxmal eritmasi, ikkinchisiga esa 10 tomchi 2% li saxaroza eritmasi solinadi.

7. Ikkala probirkaga 5 tomchidan achitqi saxarozasi qo'shib, aralashtirilgach, ularni 10-15 daqiqaga 37°C li termostatga qo'yiladi. Ko'rsatilgan vaqt o'tgach, probirkalar olinib, ular tarkibidagi suyuqliklar bilan Trommer reaksiyasi o'tkaziladi. Saxaroza substrat sifatida bo'lgan probirkada mis gidroksidi qaytarilganligi kuzatiladi, bu esa saxarozani saxaroza ta'sirida parchalanganligini ko'rsatadi.

Amilaza va saxaroza ta'sirining spesifikligi

Ferment	Substrat	Gidrolizlanish harorati	Trommer reaksiyasi

Nazorat uchun savollar:

1. Ferment faolligi nima bilan ifodalanadi?
2. Spektrofotometrik usul qanday asosda ishlaydi?
3. Kolorimetrik usulda qanday substratlar qo'llaniladi?
4. Qaysi fermentlar titrimetrik usul bilan aniqlanishi mumkin?
5. So'lak amilazasi fermentlarining qaysi sinfiga kiradi?

Test savollari

1. Ferment faolligi nima bilan belgilanadi?

- A) Reaksiyaning rangiga qarab
- B) Substrat konsentratsiyasi bilan
- C) Vaqt birligida substratni mahsulotga aylantirish qobiliyati bilan
- D) Eritma harorati bilan

2. Spektrofotometrik usulda ferment faolligi qanday aniqlanadi?

- A) Eritmaning ta'miga qarab
- B) Rangli mahsulot hosil bo'lishiga qarab
- C) Yutilish darajasining o'zgarishiga qarab
- D) Gaz ajralishiga qarab

3. Kolorimetrik usulda ferment faolligi qanday belgilanadi?

- A) Issiqlik chiqarilishi bilan
- B) Rang o'zgarishi orqali
- C) PH darajasi orqali
- D) Gaz bosimi bilan

4. Titrimetrik usulda ferment faolligi qanday aniqlanadi?

- A) Nur yutilishi bilan
- B) Rangli reaksiya orqali

C) Elektromagnit kuch bilan

D) Kislota yoki asosni titrlash orqali

5. Fermentlar faolligi qaysi birlikda ifodalanadi?

A) mmol/L

B) IU (xalqaro birlik)

C) mol/m³

D) mg/kg

6. Qaysi ferment faolligini kolorimetrik usulda aniqlash mumkin?

A) Amilaza

B) Kislotali fosfataza

C) Laktatdehidrogenaza

D) Ureaza

7. Fluorimetrik usulning asosiy afzalligi nima?

A) Eng oddiy usul

B) Juda tez bajariladi

C) Juda sezgir usul

D) Radiatsiya talab qiladi

8. Ferment faolligini aniqlashda ishlatiladigan substrat misolini toping:

A) Glyukoza

B) P-nitrofenilfosfat

C) Formalin

D) NaCl

9. Qaysi fermentni titrimetrik usulda aniqlash mumkin?

A) AST

B) Ureaza

C) Fosfataza

D) Katalaza

10. Ferment faolligi tibbiyotda nima uchun aniqlanadi?

A) Oziqa sifatini baholash uchun

B) Bemor tana haroratini o'lchash uchun

C) Kasalliklarni tashxislash uchun

D) Suv tarkibini o'rganish uchun

4-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Fermentlarni immobilashning fizik-kimyoviy usullari

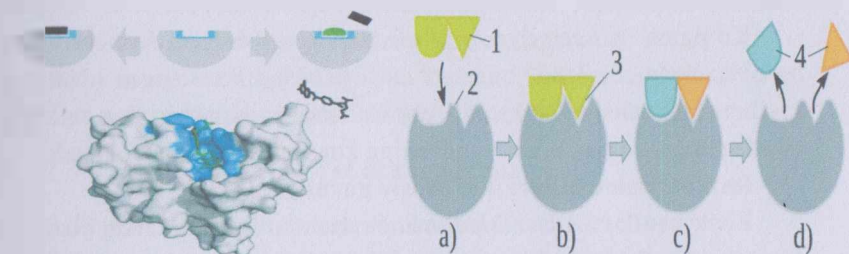
Mashg'ulot maqsadi: Talabalarga fermentlarni immobilash tushunchasi, maqsadi, afzalliklari va fizik-kimyoviy usullari haqida bilim berish. Talabalarda immobilizatsiya texnologiyalari bo'yicha amaliy ko'nikmalarni shakllantirish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama, ko'rgazmali o'qitish (vizual materiallar orqali), konspekt asosida mustaqil ishlash

Mavzuning ahamiyati: Fermentlarni immobilash biotexnologiya, farmatsevtika keng qo'llaniladigan ilg'or texnologiyalardan biridir. Bu jarayon fermentlarni reaksiya muhiti bilan doimiy bog'lash orqali ularning ishlash muddatini uzaytiradi, qayta ishlatish imkonini beradi, dori vositalarining sifat nazorati va ishlab chiqarish samaradorligini oshiradi.

Nazariy qism



4.1-rasm. a) – substrat fermentning faol markaziga yaqinlashadi; b) – substrat va ferment kompleks hosil qiladi; c) – ferment va reaksiya mahsulotlari majmuasi; d) – mahsulotlar fermentning faol markazini tark etadi; 1 - substrat; 2 – faol markaz; 3 - faol markaz substrat bilan aniqroq aloqa qilish uchun shaklini biroz o'zgartiradi; 4 - reaksiya mahsulotlari, rasmdagi misolda - substrat molekulasining bo'linishi, faol markazni tark etadi.

Fermentlar 3 yo'nalishda tadbiq qilinadi va qo'llaniladi

1. Bir qator kasalliklar ayrim fermentlarning nasliy yetishmasligidan kelib chiqishi mumkin. Masalan ruhiy faoliyatining buzilishi bilan kuzatiladigan fenilketonuriya esa fenilalanin aminokislotasini oksidlab terozinga o'tkazuvchi ferment terozina faolligining kamligiga bog'liq va boshqalar. Bu yo'nalish enzimopatologiya deb ataladi.

2. Qonda, siydikda, to'qima preparatlarida fermentlar miqdorini aniqlash orqali kasallik tashxisini qo'yish va uni kuzatib borish. Masalan, LDG va aminotransferazalar izofermentlarning qondagi miqdorini belgilash orqali yurak va jigar kasalliklarini bir-biridan ajratish.

3. Enzimoterapiya-fermentlar bilan davolash, masalan, chandiqlarni proteolitik fermentlarni kiritish bilan so'rilishini tezlatish, fermentlarning yetishmasligi bilab bog'liq nasliy kasalliklarni tashqaridan ferment preparatlari kiritib davolash mumkin.

Farmatsevtika sohasida fermentlardan foydalanish

1. Laboratoriya diagnostikasida fermentlarning ma'lum substratlarga xosligi keng qo'llaniladi.

2. Ferment ingibitorlaridan foydalanish.

3. Kompleks ferment-antigen-antikor hosil bo'lishiga asoslangan immuno usullari.

Ko'pgina laboratoriya usullari tashqi qo'shilgan fermentlarning aniqlanadigan birikma bilan o'zaro ta'siriga asoslangan. Natijada ma'lum bir reaksiya mahsuloti paydo bo'ladi, ikkinchisining tarkibini aniqlagandan so'ng kerakli moddaning konsentratsiyasi baholanadi.

Immobilashtirish usullari ikki asosiy guruhga bo'linadi:

Fizik usullar: Adsorbsiyalash: Fermentlar tashuvchining yuzasiga Van der Waals kuchlari, vodorod bog'lari yoki elektrostatik kuchlar orqali birikadi.

Afzallik: Oson, arzon, ferment faolligi saqlanadi

Kamchilik: Oson ajralib ketishi mumkin

Entrapment (to'rga olish): Fermentlar polimer matritsa (masalan, alginat, gelatin) ichiga kirgizib qo'yiladi. Misol: Kaltsiy-alginat kapsulalari

Kimyoviy usullar: Kovalent bog'lash: Fermentlar tashuvchining faol guruhlari bilan kovalent bog' orqali birikadi. Mustahkam bog', lekin ferment faolligi biroz pasayishi mumkin.

Ion almashinuvi: Fermentlar ionli guruhlar bilan bog'lanadi. O'zgaruvchan pH va ion kuchi ta'sirida ajralishi mumkin

Ishning bajarish tartibi

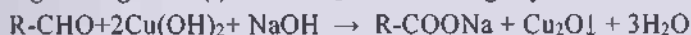
Reaktivlar: Na-alginat eritmasi, Kaltsiy xlorid eritmasi, Ferment (masalan, ureaza yoki amilaza).

Jihozlar: Pipetka, Petri idish, muzlatgich, stakanlar.

2% Na-alginat eritmasiga ferment aralashtiriladi, aralashma tomchilab 0,1 M CaCl_2 eritmasiga qo'shiladi, hosil bo'lgan kapsulalar 10–15 daqiqa davomida mustahkamlanadi kapsulalar yuvilib, Trommer reaksiyasi o'tkaziladi. Glyukoza tarkibidagi aldegid guruhi mis (II) ionlarini qaytarib aniqlaniladi:

- Dastlab ko'k rangli cho'kma $\text{Cu}(\text{OH})_2$ hosil bo'ladi.

- Qizdirilganda, glyukoza ta'sirida ko'k rang avval sariqqa, keyin esa zangori rangli mis (I) oksid Cu_2O cho'kmasiga aylanadi.



Agar rang qizarsa: Demak, ferment kapsula ichida muvaffaqiyatli immobilizatsiya bo'lgan va u o'z vazifasini bajarib, murakkab shakarni oddiy qaytaruvchi qandga (glyukozaga) parchalagan.

Agar rang ko'kligicha qolsa: Demak, ferment faol emas yoki reaksiya sodir bo'lmagan (qand hosil bo'lmagan).

Nazorat uchun savollar:

1. Fermentlarni immobilash nima degani?
2. Immobilizatsiya qanday usullar bilan amalga oshiriladi?
3. Fizik usullarga misol keltiring.
4. Kovalent bog'lanishning afzallik va kamchiliklari nimalardan iborat?

Test savollari

1. Immobilizatsiya jarayonining asosiy afzalligi nimada?

- A) Fermentlar tez eriydi
- B) Fermentlar parchalanadi

C) Fermentlarni qayta ishlatish imkoniyati yaratiladi

D) Fermentlar organizmda faollashadi

2. Fermentlarni tashuvchi materialga kovalent bog' orqali biriktirish qaysi usulga kiradi?

A) Adsorbsiyalash

B) Entrapment

C) Kimyoviy immobilizatsiya

D) Diffuziya

3. Fermentlarni immobilashda qanday modda tashuvchi sifatida ishlatilmaydi?

A) Sefarosa

B) Kaolin

C) Paxta tolasi

D) Alginat

4. Adsorbsiyalash usulining asosiy kamchiligi nimada?

A) Mahsulot sifati yomonlashadi

B) Ferment faolligi yo'qoladi

C) Ferment tashuvchidan ajralib ketishi mumkin

D) Ferment rangini o'zgartiradi

5. Entrapment usulida ferment qayerda joylashadi?

A) Polimer to'r ichida

B) Eritmada suzadi

C) Eritmaga eriydi

D) Kristall holatda

6. Immobilizatsiyalangan fermentlar qanday afzalliklarga ega?

A) Juda tez parchalanadi

B) Qisqa muddatli saqlanadi

C) Barqaror, uzoq ishlatiladi

D) Faqat bir marta ishlatiladi

7. Fizik usullarga qaysi biri misol bo'la olmaydi?

A) Adsorbsiyalash

B) Entrapment

C) Kovalent bog'lanish

D) Diffuziya

8. Immobilizatsiyada ishlatiladigan tashuvchilar uchun eng muhim xossa qanday?

- A) Rangli bo'lishi
- B) Suvda erimasligi
- C) Gaz chiqarishi
- D) Ta'mga ega bo'lishi

9. Immobilizatsiya usuli fermentga qanday ta'sir qiladi?

- A) Doimiy ravishda faolligini oshiradi
- B) Faolligini doimiy pasaytiradi
- C) Barqarorligini oshirib, faolligini saqlaydi
- D) Denaturatsiyaga olib keladi

10. Kaltsiy-alginat kapsulalari qanday ferment immobilizatsiyasiga misol bo'ladi?

- A) Adsorbsiyalash
- B) Entrapment
- C) Ion almashinuvi
- D) Revers bog'lanish

5-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Bioreaktorlar bilan tanishuv va ishlash qoidalari

Mashg'ulot maqsadi: Talabalarda bioreaktorlarning tuzilishi, turlari, ishlash prinsipi va sanitariya-gigiyena talablariga muvofiq ishlash qoidalari haqida nazariy bilim va amaliy ko'nikmalarni shakllantirish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Bioreaktorlar – bu mikroorganizmlar, fermentlar yoki hujayra kulturasi asosida biologik mahsulotlar (fermentlar, antibiotiklar, vitaminlar, vaksinalar) ishlab chiqariladigan maxsus apparatlardir. Ular biotexnologiyaning yuragi bo'lib, farmatsevtik sanoat, oziq-ovqat, bioyoqilg'i, ekologik texnologiyalar uchun strategik ahamiyatga ega.

Nazariy qism

Bioreaktor - bu turli xil kimyoviy moddalar va biologik reaksiyalarni ishlab chiqarish uchun ishlatiladigan fermentatsiya qurilmalarning bir turi. Bu aeratsiya, aralashtirish, harorat va pH nazorati, shuningdek ekilgan mikroorganizmlarning chiqindilari biomassasini ularning mahsulotlari bilan birga olib tashlash uchun drenaj yoki to'lib toshgan ventilyatsiya uchun mos tartibga ega yopiq qurilma. Bioreaktor mikroorganizmlar uchun ma'qul bo'lgan o'sish va substratlarning biotransformatsiyasi va biokonversiyasi uchun metabolitlarni ishlab chiqarish uchun muhitni ta'minlaydi. Reaktorlar ishlatiladigan organizmlarning o'sish talablari asosida ishlab chiqilishi yoki ishlab chiqarilishi mumkin. Reaktorlar biologik materiallarni kerakli mahsulotlarga aylantirish uchun tayyorlanishi mumkin bo'lgan mashinalardir. Ular turli fermentlarni va boshqa biokataliz jarayonlarini ishlab chiqarish uchun ishlatilishi mumkin. So'nggi yillarda biotexnologik sanoatda qo'llaniladigan ko'pgina fermentyorlar paydo bo'lib, ular biomassani aerob o'stirish va uning metabolitlarini olishga

mo'ljallangandir. Aerob jarayonlarning effektivligini ko'rsatuvchi asosiy ko'rsatkich bo'lib, gazning suyuqlik bilan kontaktda bo'luvchi yuzasi hisoblanadi. Ushbu yuzaning hosil bo'lish usuliga qarab gazsuyuqlik fermentyorlarini uch asosiy guruhga ajratish mumkin: -erliftli; -gazni mexanik dispergirlovchi; -oqimli. Erliftli fermentyorlarda fazalarning kontakt yuzasi gazni gaz taqsimlovchi tuzilmalar orqali sirkulyasiyadagi suyuqlik qatlamiga kiritganda hosil bo'ladi. Apparatning katta ishchi hajmi kerak bo'lganda hamda gaz fazasi sifatida tarkibida massa almashinuvida zarur sharoitlarni ta'minlash va kultural muhitni pnevmo aralashtirish uchun yetarli kinetik energiyani o'zida tutuvchi 80% azot bo'lgan havo ishlatilganda bu fermentyorlarni qollash maqsadga muvofiq bo'ladi.

Bu fermentyorlar yuqori ekspluatatsion ishonchlikka ega, chunki konstruksiyaning ichki harakatlanuvchi elementlariga ega emas. Ularda suyuqlik sirkulyasiyasi shartlarini buzmaganda, yetarlicha katta yuza maydoniga ega issiqlik almashinuvi tuzilmalarini joylashtirish qulay. Gazni mexanik dispergirlovchi fermentyorlarda apparatga kiritiladigan gaz suyuqlik bilan mahsus tuzilmalar yordamida aralashtiriladi. Ularni apparatning $V \leq 100 \text{ m}^3$ hajmida qo'llash maqsadga muvofiqdir. Ular toza gazda ishlaganda faolroq hisoblanadi. Bunda moddaning gazdan o'tkazilishining yetarlicha yuqori intensivligiga rivojlangan fazalararo yuza hisobiga erishiladi. Kichik hajmli apparatlar yuqori bosimda ishlashi mumkin. Oqimli fermentyorlarda gaz nasadkalar sistemasi orqali apparat kesimi bo'ylab taqsimlanadigan suyuqlik oqimlari bilan e'ejektirlanadi. Mikrobiologik sanoatda, asosan, o'zaro konstruksiyasi va ishlash sharoitlari bilan farqlanadigan uch turdagi erliftli fermentyorlar qo'llaniladi. Achitqili ishlab chiqarishda eng keng tarqalgan va ko'pincha aeratorlar yoki kyuvetalar deb ataladigan kyuvetali aeratorlarga ega fermentyorlar.

Jahon uyushmasi prinsipi bo'yicha biokimyoviy bioreaktorlar 3 guruhga bo'linadi:

1. Davriy ishlaydigan bioreaktorlar.
2. Uzlaksiz ishlaydigan bioreaktorlar.

3. Yarim uzluksiz ishlaydigan bioreaktorlar.

Davriy ishlaydigan bioreaktorlar: barcha bo'limlaridagi jarayon turli vaqtda sodir bo'ladi. Unda ta'sir etuvchi moddalar konsentratsiyasi reaksiyon hajmning barcha nuqtalarida bir xildir. Bioreaktorda davriy harakatlanayotgan texnologik jarayonlar ko'rsatkichlari vaqt bo'yicha o'zgarib turadi. Davriy ishlaydigan bioreaktorlarda ishlab chiqarish samaradorligi past va ularni avtomatik rostlash va nazorat qilish qiyindir.

Uzluksiz ishlaydigan bioreaktorlar: barcha alohida bo'limlardagi jarayonlar moddalarning biokimyoviy o'zgarishi ta'sir etuvchi moddalarning uzatilishi, biokimyoviy reaksiyalar, oxirgi mahsulotlarning chiqishi bir vaqtda parallel amalga oshadi. Reaksiyon hajmidagi ta'sir etuvchi moddalarning konsentratsiyasi o'zgarishi har bir vaqtda apparat hajmidagi turli nuqtalarining har biri uchun doimiydir. Bunday apparatlarda jarayoning texnologik ko'rsatkichlari vaqt bo'yicha doimiydir. Lekin uzluksiz ishlaydigan bioreaktorlardagi reaksiya doimiyligini o'lchash mumkin emas. Uzluksiz ishlaydigan reaktorlar uchun yuqori tezkor elektron hisoblash mashinalarini qo'llash mumkin.

Yarim uzluksiz(yarim davriy) ishlaydigan bioreaktorlar: ishlaydigan bioreaktorlar joriy qilinmagan sharoitda ishlaydi, chunki reagentlarning biri apparatga uzluksiz boshqasi esa davriy kiradi. Ba'zi hollarda reagent davriy kirib, reaksiya mahsuloti uzluksiz ortadi. Yarim davriy ishlaydigan reaktorlardan reagentning berilish tezligini o'zgarishi jarayon tezligini boshqarishga imkon bersa shundagina foydalaniladi.

Nazorat uchun savollar:

1. Bioreaktor nima va u qanday asosiy qismlardan tashkil topgan?
2. Aerob bioreaktorlarda gaz-suyuqlik kontakt yuzasining ahamiyati nimada?
3. Erliftli, gazni mexanik dispergirlaydigan va oqimli fermentyorlar qanday farq qiladi?
4. Davriy, uzluksiz va yarim uzluksiz bioreaktorlar o'rtasidagi farqlar nimalarda ifodalanadi?

5. Bioreaktorlarda ishlatiladigan mikroorganizmlar va ularning metabolitlarini olish jarayoni qanday nazorat qilinadi?

Test savollari

1. Bioreaktor nima?

- A) Ochiq havoda fermentatsiya apparati
- B) Kimyoviy moddalarning sintezi uchun reaktiv idish
- C) Mikroorganizmlar o'sishi va metabolit hosil bo'lishi uchun mo'ljallangan yopiq qurilma
- D) Filtratsiya apparati

2. Erliftli fermentyorlarning asosiy afzalligi nimada?

- A) Murakkab harakatlanuvchi qismlarga ega
- B) Arzon narxda ishlaydi
- C) Ichki harakatlanuvchi qismlarga ega emasligi
- D) Past bosimda ishlashi

3. Oqimli fermentyorlarda gaz qanday kiritiladi?

- A) Kompresor orqali bosim bilan
- B) Nasadkalar yordamida ejektirlanadi
- C) Suyuqlik yuzasiga to'g'ridan-to'g'ri yuboriladi
- D) Faqat pasaytirilgan haroratda kiritiladi

4. Davriy ishlaydigan bioreaktorlar uchun to'g'ri tavsifni aniqlang:

- A) Jarayon barcha bo'limlarda bir vaqtning o'zida kechadi
- B) Mahsulotlar uzluksiz chiqariladi
- C) Jarayon ko'rsatkichlari vaqt davomida o'zgaradi
- D) Kompyuter bilan avtomatik boshqariladi

5. Uzluksiz ishlaydigan bioreaktorlarning xususiyati qanday?

- A) Dastlabki va yakuniy mahsulot bir vaqtda kiritilmaydi
- B) Moddalar har doim to'liq reaksiyaga kirishmaydi
- C) Texnologik ko'rsatkichlar vaqt bo'yicha doimiy bo'ladi
- D) Har doim bosim ostida ishlaydi

6. Qaysi fermentyor turida gaz va suyuqlik mexanik aralashtiriladi?

- A) Erliftli

B) Gazni mexanik dispergiralaydigan

C) Oqimli

D) To'xtab turuvchi

7. Erlifltli fermentyorlarda ishlatiladigan gaz odatda qanday bo'ladi?

A) Toza kislorod

B) Havo, 80% azot tarkibli

C) Karbonat angidrid

D) Geliy

8. Yarim uzluksiz bioreaktor qanday ishlaydi?

A) Barcha modda davriy kiritiladi

B) Mahsulot faqat boshlanishda olinadi

C) Biri davriy, biri uzluksiz kiritiladi

D) Moddalar kiritilmaydi

9. Bioreaktorning samaradorligini belgilovchi asosiy ko'rsatkichlardan biri bu:

A) Elektr energiyasi sarfi

B) Suyuqlik viskozligi

C) Gaz-suyuqlik kontakt yuzasi

D) Harorat darajasi

10. Qaysi bioreaktorda moddalarning biokimyoviy o'zgarishi, mahsulot hosil bo'lishi va chiqishi bir vaqtda sodir bo'ladi?

A) Davriy ishlaydigan

B) Uzluksiz ishlaydigan

C) Yarim uzluksiz ishlaydigan

D) To'xtovsiz ventilyatsiyali

6-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Rekombinant DNK usulida oqsil sintezini modellashtirish

Mashg'ulot maqsadi: Talabalarda rekombinant DNK texnologiyasi orqali oqsil sintezi jarayonining asosiy bosqichlarini tushunish, uri nazariy va modellashtirilgan amaliy ko'rinishda tasavvur qilish, va bu texnologiyaaning tibbiyot va farmatsevtika sohalaridagi ahamiyatini anglash.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

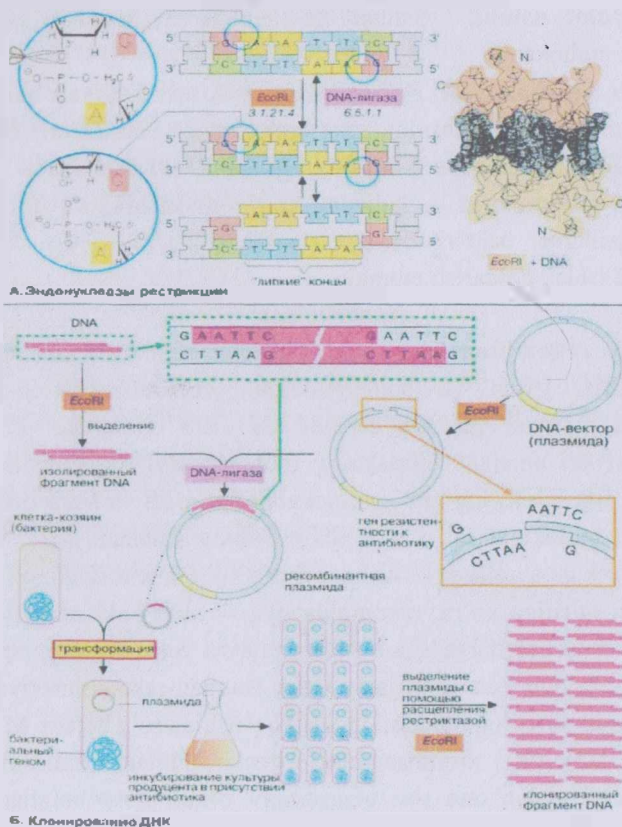
Mavzuning ahamiyati: Rekombinant DNK texnologiyasi biologik faol oqsillarni (masalan, insulin, interferon, vaksin antigenlari) sanoat miqyosida sintez qilishda muhim o'rin egallaydi. Bu usul orqali inson organizmida tabiiy sintez bo'ladigan, lekin yetishmovchilik bo'yicha muhim oqsillarni bakteriyalarda, xamirturushlarda yoki boshqa hujayralarda ishlab chiqarish mumkin.

Nazariy qism

Genetik rekombinatsiya — ikki xromosomalararo genlarning almashinuvidir. Virus va bakteriyalarda genetik rekombinatsiya hayvonlarga nisbatan kamroq bo'ladi. *In vitro* sharoitida genetik rekombinatsiyani amalga oshirishning mohiyati turli organizmlardan DNKni ajratish, DNKning gibrid molekulalarini olish va hosil bo'lgan rekombinant molekulalarni o'ziga xos oqsilning sintezini hosil qilish maqsadida tirik hujayralarga kiritishdan iboratdir. Pontekorvoning 1958-yilda bergan ta'rifiga ko'ra, rekombinatsiya — ikki yoki undan ortiq determinant irsiy belgilarga ega bo'lgan hujayra yoki organizmlarning hosil bo'lishiga olib keladigan jarayondir. Bunday rekombinatsiya sut emizuvchilarda jinsiy hujayralarning hosil bo'lishida ro'y beradi. Meyoz vaqtida gomologik xromosomalar genlar bilan almashinadi (krossingover); aynan ana shu almashinuv orqali irsiy belgilarning avloddan avlodga o'tishini tushuntirish mumkin.

Virus va bakteriyalarda genetik rekombinatsiya hayvonlarga nisbatan kamroq bo'ladi. Genetik materialning almashinuvi, undan keyin sodir bo'ladigan rekombinatsiya bir yoki bir-biriga yaqin turlarda ro'y beradi. Bakteriya hujayralariga DNKni kiritish bir necha usullarda amalga oshiriladi. Shulardan ko'proq ishlatiladiganlari quyidagilar:

- vektor sifatida plazmidadan foydalanish;
- vektor sifatida bakteriofagdan foydalanish.
- Bulardan tashqari, DNK hujayraga endotsitoz, liposomalarai maxsus pistoletlar yordamida otish (buni biolistika ham deb yuritiladi), mikroineksiya orqali kiritish yo'llari ham mavjud.



6.1-расм

Ishning bajarish tartibi

Asosiy bosqichlar:

- ✓ Maqsadli genni ajratib olish – masalan, insulin kodlovchi gen.
- ✓ Vektor tanlash va tayyorlash – bakterial plazmid, virus DNKsi va h.k.
- ✓ Restriktaza fermentlari bilan kesish – gen va plazmidni kesish.
- ✓ Ligaza yordamida rekombinatsiya – maqsadli gen plazmidga biriktiriladi.
- ✓ Transformatsiya – vektor bakteriyaga (masalan, *E. coli*) kiritiladi.
- ✓ Ekspressiya va oqsil sintezi – bakteriyada oqsil ishlab chiqariladi.
- ✓ Oqsilni ajratib olish va tozalash – maqsadli oqsilni ajratib olish.

Tajriba bosqichlari modellashtirilgan ko'rinishda bajariladi:

1. **Model DNK va plazmid (maketlar) tayyorlanadi** – Raqamli maketlar yoki rangli shnurlar orqali gen va vektor ko'rsatiladi.

2. **Kesish va biriktirish bosqichi sxematik tarzda modellashtiriladi** – “Kesilgan” DNK segmenti plazmidga joylashtiriladi (velkro lenta, Lego elementlar, magnitli model orqali).

3. **Transformatsiya jarayoni ko'rsatiladi** – Bakterial hujayra modeli ichiga rekombinant plazmid kiritiladi.

4. **Oqsil sintezi** – oqsil ishlab chiqarishni ifodalovchi markerlar bilan (masalan, rangli biosuklar, oqish modellar) yasaladi.

5. **Oqsilni ajratish va tozalash** – filtr yoki marker yordamida tasviriyl ajratish amalga oshiriladi.

Nazorat uchun savollar:

1. Rekombinant DNK nima va qanday maqsadda qo'llaniladi?
2. Transformatsiya va ekspressiya nima?
3. Vektor sifatida qaysi DNK turlari ishlatiladi?
4. Restriktaza va ligaza fermentlarining vazifasi nima?
5. Rekombinant oqsil qanday hollarda ajratib olinadi?

Test savollari

1. Rekombinant DNK nima?

- A) Faqat inson DNKsi
- B) Fermentativ DNK shakli
- C) Turli organizmlarning DNK fragmentlaridan sun'iy yig'ilgan DNK
- D) DNKning tozalangan shakli

2. Oqsil sintezida asosiy maqsad nima?

- A) DNKni ko'paytirish
- B) Oqsilni yo'q qilish
- C) Maqsadli oqsilni hujayrada ishlab chiqarish
- D) Genni modifikatsiya qilish

3. Vektor sifatida eng ko'p ishlatiladigan DNK shakli bu:

- A) Mitoxondrial DNK
- B) Ribosomal RNK
- C) Plazmid
- D) Virus RNK

4. Qaysi ferment DNKni kerakli joydan kesadi?

- A) Polimeraza
- B) Ligaza
- C) Restriktaza
- D) Transferaza

5. Ligaza fermenti nima vazifani bajaradi?

- A) DNKni ajratadi
- B) RNKga aylantiradi
- C) DNK fragmentlarini birlashtiradi
- D) Oqsilni sintez qiladi

6. Transformatsiya bu –

- A) Genni o'chirib tashlash jarayoni
- B) Plazmid DNKni bakteriyaga kiritish
- C) DNKni replikatsiyalash
- D) Oqsilni parchalaydigan jarayon

7. Ekspressiya deganda nima tushuniladi?

- A) DNKni sterilizatsiya qilish
- B) DNKdan RNK hosil bo'lishi
- C) Genetik ma'lumot asosida oqsil sintezining boshlanishi
- D) Genni yo'q qilish

8. Qaysi bakteriya ko'pincha rekombinant oqsillar sintezida ishlatiladi?

- A) Salmonella typhi
- B) Staphylococcus aureus
- C) Escherichia coli
- D) Bacillus anthracis

9. Rekombinant insulin birinchi marta qaysi texnologiya yordamida ishlab chiqarilgan?

- A) Kimyoviy sintez
- B) Fermentatsiya
- C) Rekombinant DNK texnologiyasi
- D) Elektroforez

10. Rekombinant oqsillar qanday usulda ajratib olinadi?

- A) Termik ajratish
- B) Fermentlar bilan parchalanish
- C) Santrifugatsiya va tozalash bosqichlari orqali
- D) Quritish orqali

7-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Mikrobiologik xomashyoni tanlash va ishlov berish

Mashg'ulot maqsadi: Talabalarni sanoat va laboratoriya sharoitida mikrobiologik xomashyolarni to'g'ri tanlash, baholash va ularga dastlabki ishlov berish bosqichlari bilan tanishtirish. Xomashyo sifatining biotexnologik mahsulot sifati va samaradorligiga ta'sirini tushuntirish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Mikrobiologik sanoatda qo'llaniladigan barcha jarayonlar (fermentatsiya, vaksina ishlab chiqarish, antibiotiklar sintezi va b.) uchun yuqori sifatli va mos mikrobiologik xomashyo muhim ahamiyatga ega. Xomashyoning sifatsiz yoki mos bo'lmagan shakli butun jarayon samaradorligini pasaytiradi yoki buzadi. Shuning uchun xomashyoni tanlash, tekshirish va steril ishlov berish amaliy ko'nikmalarini shakllantirish juda muhimdir.

Nazariy qism

Mikrobiologik xomashyo turlari: Bakteriyalar – masalan, *E. coli*, *B. subtilis*,

Zamburug'lar (moychechak, penitsillium), xamirturushlar – *Saccharomyces cerevisiae*

Aktinomitsetlar – antibiotiklar ishlab chiqaruvchilar, viruslar – vaksina ishlab chiqarishda (masalan, gripp virusi)

Tanlash mezonlari: Biologik faolligi yuqori bo'lishi, genetik barqarorlik, tez o'sishi, mahsulot chiqarish qobiliyati, sanoat sharoitiga moslashuvchanlik.

Ishlov berish bosqichlari: Kulturaning sof holatini tekshirish, agar muhitda ko'paytirish

Sterilizatsiya qilish (avtoklavda 121°C, 15 daqiqa), subkulturani olish va saqlash (muzlatkichda yoki liofilizatsiya qilingan holda), shtammni kuchaytirish va fermentatsiya uchun tayyorlash.

Ish bajarilishi:

1. Laboratoriyada mavjud mikroorganizmlar to'g'risida ma'lumot to'plash

2. Tanlangan xomashyodan namuna olib, steril sharoitda o'stirish

3. Agar yoki suyuq ozuqa muhitida ko'paytirish

4. Kulturani mikroskop ostida kuzatish va baholash

Tarkibi va ishlatilishi:

Tarkibi: Mikrobiologik shtammlar (bakteriya, zamburug'lar), ozuqa muhirlari (MPA, MPA, YEPD), steril asbob-uskunalar: inokulyatsiya ilgagi, petri idishi, avtoklav, mikroskop, thermostat.

Ishlatilishi: Antibiotiklar sintezi, fermentlar, aminokislotalar ishlab chiqarish, vaksinalar uchun antigenga boy kulturalarni o'stirish, biopolimerlar va boshqa BFM olish

Nazorat uchun savollar:

1. Mikrobiologik xomashyo nima va uning ahamiyati nimada?
2. Mikrobiologik xomashyo tanlashda asosiy mezonlar nimalar?
3. Sterilizatsiya nega zarur?
4. Mikrobiologik shtammlarni qanday saqlash mumkin?
5. Mikroskopik tekshiruvdan maqsad nima?

8-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Antibiotiklar ishlab chiqarish uchun shtammlar bilan ishlash

Mashg'ulot maqsadi: Talabalarga antibiotiklar ishlab chiqaruvchi mikroorganizmlar shtammlari bilan ishlash asoslarini o'rgatish, steril ishlash usullarini, antibiotik hosil bo'lishini aniqlash hamda shtammlarni saqlash va seleksiya qilish ko'nikmalarini shakllantirish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama.

Mavzuning ahamiyati: Antibiotiklar zamonaviy tibbiyotda eng muhim dori vositalaridan biridir. Ushbu mashg'ulotda talabalar: sanoat mikrobiologiyasining asoslarini o'rganadi; antibiotik ishlab chiqaruvchi shtammlar bilan ishlash ko'nikmasini egallaydi; laboratoriyada steril ishlash madaniyatiga rioya qilishni o'rganadi;

Zarur jihozlar va materiallar

Jihozlar: Mikrobiologik laminar shkaf, inkubator (28–30°C), avtoklav, termostat, mikroskop

Asbob-uskunalar: Petri idishlari, erlenmeyer kolbalar, mikropipetkalar, shpritslar va ignalar, steril qalamlar, kuydirgich (bunsen yoki spirt lampasi)

Materiallar: Shtammlar (masalan: *Streptomyces griseus*), nutrient agar va sabzavot ekstrakti asosidagi muhitlar, antibakterial faoliyatni tekshirish uchun test mikroorganizmlar (masalan: *E. coli*, *Bacillus subtilis*), fenol qizil, bromtimol ko'k kabi indikatorlar

Nazariy qism

Antibiotiklar - mikroorganizmlar sintez qiluvchi eng yirik sinov farmatsevtik preparatlar hisoblanadi. Atigi 6 avlodga mansub zamburug'larni 1000 dan ortiq xilma-xil antibiotiklar sintez qilishi ma'lum. Ko'pgina antibiotiklarni aktinometsitlar sintez qiladilar. Birgina *Streptovycus griscus* 50 dan ortiq antibiotiklar sintez qilishi ma'lum. Mikroorganizmlar sintez qiladigan antibiotiklardan atigi bir qismigina

amaliyotda keng ishlatiladi. Eng avvalo bular penisillinlar va sefalosporinlardir.

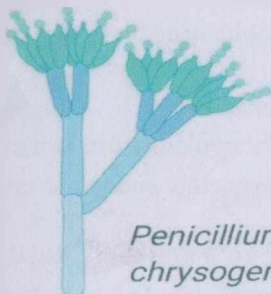


Micromonospora

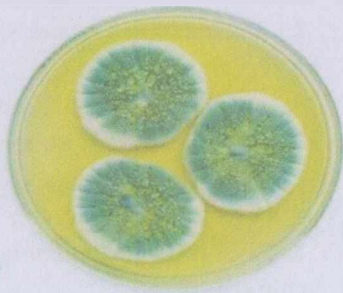
8.1 va 8.2-rasmlar Bacillus

Bu antibiotiklarni sintez qiluvchi zamburug'lar *Penicillium* va *Cephalosporum* avlodiga mansub. Streptomisin, gentamisin, tetrasiklin kabi antibiotik *Streptomyces* avlodiga mansub aktinomisetlar hamda *Micromonospora* va *Bacillus* avlodlariga mansub bakteriyalar tomonlaridan sintez qilinadilar.

Gen muxandisligi "davri" gacha antibiotik sintez qiluvchi mikroorganizmlar shtammlarini asosan mutageniz va seleksiya yo'llari orqali olingan. Masalan: seleksiya hamda fermentasiya sharoitlarini mulash oqibatida sanoat sharoitida penisillin ishlab chiqaradigan shtammni hosildorligi 1 litr oziqa muhitida 40 grammgacha ko'tarildi. Bu ko'rsatkich, dastlabki, *Penicillium chrysogenum* shtammiga nisbatan 20 ming marotaba ko'proqdir.



*Penicillium
chrysogenum*



8.3-rasm

Ishni bajarish tartibi

1. Ish joyini tayyorlash - Sterilizatsiyadan o'tgan barcha materiallar tayyor holatga keltiriladi. Qo'l va asboblari antiseptik bilan dezinfeksiya qilinadi.

2. Shtammlarni ekish - Steril sharoitda shtamm Petri idishiga nutrient agar ustiga ekiladi. Inkubatorida $28-30^{\circ}\text{C}$ da 48-72 soat ushlab turiladi

3. Antibiotik ishlab chiqarish uchun fermentatsiya - Erlenmeyer kolbaga suyuq ozuqa muhitiga shtamm inokulyatsiya qilinadi. Termostatda 3-5 kun fermentatsiya qilinadi.

4. Antibakterial faollikni aniqlash - Filtrat olinib, test mikroorganizmlar ekilgan petri idishiga tomiziladi. Antibiotik zonasi diametri o'lchanadi (millimetrd).

5. Shtammlarni saqlash - Shtammlar glitserinli muhitda -20°C da yoki agarda $+4^{\circ}\text{C}$ da saqlanadi.

Nazorat uchun savollar

1. Antibiotik ishlab chiqaruvchi asosiy mikroorganizmlar qaysilar?
2. Fermentatsiya nima va uning maqsadi nima?
3. Shtammlarni saqlash usullari qanday?
4. Agar diffuziya usuli qanday ishlaydi?
5. Antibiotik zonasi qanday o'lchanadi?
6. Shtammlarni seleksiya qilishda qanday mezonlarga e'tibor beriladi?
7. Steril sharoitni ta'minlash nega muhim?
8. Shtammlarni qayta ekishdan oldin qanday tayyorgarlik ko'riladi?
9. Antibakterial faollik qanday aniqlanadi?
10. Laminar shkafda ishlash qoidalarini nimalardan iborat?

Test savollari

1. Qaysi mikroorganizmlar eng ko'p antibiotik ishlab chiqaradi?

A) *Lactobacillus*

B) Streptomyces

C) Pseudomonas

D) Candida

2. Antibiotiklar ishlab chiqaruvchi shtammlar ko'pincha qaysi muhitda o'stiriladi?

A) Tuzli suvda

B) Quruq kislorodsiz muhitda

C) Sabzavotli yoki nutrient muhitda

D) Spirtli eritmada

3. Agar diffuziya usulida nima o'lganadi?

A) Kolbaning og'irligi

B) Zaharli zonaning radiusi

C) Antibiotik zonasi diametri

D) Rangi o'zgarishi

4. Shtammlarni uzoq muddatli saqlash uchun nima ishlatiladi?

A) Spirt

B) Glitserin

C) Tuz eritmasi

D) Qaynatilgan suv

5. Inkubatsiya harorati odatda qanday bo'ladi?

A) 10°C

B) 20°C

C) 28–30°C

D) 50°C

6. Fermentatsiya muddati odatda necha kun?

A) 1 kun

B) 3–5 kun

C) 10 kun

D) 30 kun

7. Shtammlar bilan ishlaganda nima uchun steril sharoit zarur?

A) Vaqt tejash uchun

B) Namlikni kamaytirish uchun

C) Chet mikroorganizmlarning aralashmasligi uchun

D) Namuna qurimasligi uchun

8. Shtammlarni ko'paytirishdan oldin nima qilinadi?

A) Sovitiladi

B) Suv bilan yuviladi

C) Steril muhitga ekiladi

D) Kimyoviy bo'yovchi bilan bo'yaladi

9. Mikrobiologik laminar shkaf nima uchun ishlatiladi?

A) Haroratni o'lchash uchun

B) Yorug'likni oshirish uchun

C) Steril sharoit yaratish uchun

D) Muhitni quritish uchun

10. Test mikroorganizmlar nima uchun kerak?

A) Muhitni boyitish uchun

B) Antibiotik zonani ko'rish uchun

C) Rang berish uchun

D) Ishni bezash uchun

9-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Monoklonal antitanalarni ajratish va tozalash

Mashg'ulot maqsadi: Talabalarni monoklonal antitanalarni olish, ajratish va tozalashning zamonaviy usullari bilan tanishtirish

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama.

Mavzuning ahamiyati: Monoklonal antitanalar hozirgi kunda diagnostika, terapiya va ilmiy tadqiqotlarda keng qo'llaniladi. Ushbu mashg'ulot orqali antitanalarni ajratish va tozalash metodikasini amaliy o'rganishga erishiladi.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar

Jihozlar: Sentifuga (ultrabirgacha), pH o'lchagich, spektrofotometr (280 nm da), inkubator (37°C), laminar havo oqimli shkaf

Asbob-uskunalar: Mikropipetkalar (100–1000 µl), steril shprislar va filtrlar (0.22 µm), kolonka xromatografiya tizimi, SDS-PAGE gel uskunasi

Reaktivlar: Fosfat tampon eritmasi (PBS), ammoniy sulfat eritmasi (to'yingan), protein A yoki G Sepharose rezinasi, gibridoma hujayra liniyasi, RPMI-1640 muhit + FBS

Nazariy qism

Monoklonal antitanalar – bu bir xil epitopga qarshi yo'naltirilgan yagona turdagi B-limfotsitlardan ajratilgan immunoglobulinlardir. Ular gibridoma texnologiyasi yordamida olinadi: B-hujayra + miyeloma hujayra = gibridoma. Protein A/G Sepharose moddalariga IgG molekulalarining Fc qismi bilan bog'lanadi. Shu asosda antitanalar boshqa oqsillardan ajratiladi.

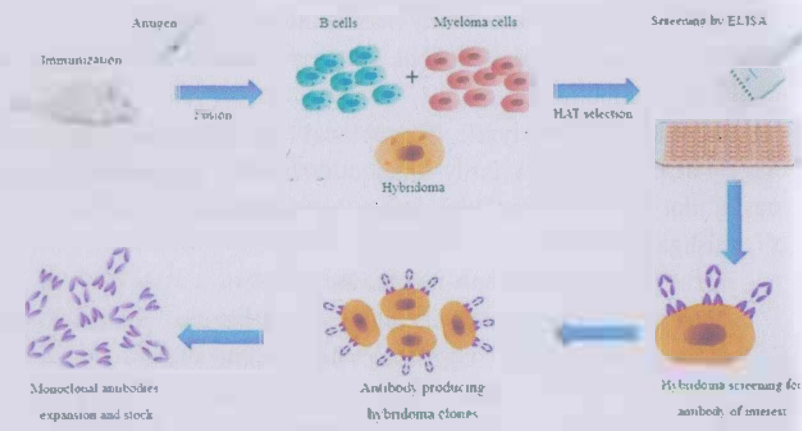
Ajratish va tozalash bosqichlari

- ✓ Gibridoma kulturasidan supernatant ajratish
- ✓ Ammoniy sulfat bilan cho'ktirish – antitanalarni fraksiyalash
- ✓ Dializ – ortiqcha tuzlardan tozalash

✓ Afinitet xromatografiya (Protein A yoki G) – faqat IgG bog‘lanadi

✓ Konsentratsiya va tozalash nazorati– spektrofotometriya va SDS-PAGE

Ishni bajarish tartibi



9.1-rasm

1-qadam: *Gibridoma supernatantini olish* - Kulturadan 5–10 ml to‘plang, 3000 rpm da 10 daqiqa sentrifugalanadi, Supernatant ajratiladi va filtrlanadi (0.22 μ m)

2-qadam: *Ammoniy sulfat bilan cho‘ktirish* - Supernatantga sekin-sekin to‘yingan ammoniy sulfat eritmasi qo‘shiladi (final konsentratsiya 40–50%), 4°C da 2 soat saqlanadi, Sentrifugalanadi va cho‘kma olinadi.

3-qadam: *Dializ-Cho‘kma* PBS ichida eritiladi, Dializ sumkasiga solinadi va 12–16 soat davomida PBS ga qo‘yiladi (kamida 3 marta almashtirish).

4-qadam: *Afinitet xromatografiyasi*- Kolonkaga Protein A Sepharose solinadi, Eritma kolonka orqali o‘tkaziladi, Yuvish: PBS bilan, Flutsiya: past pH (pH 2.7, glitsin-HCl buferi), Fraksiyalar to‘planadi va pH neytrallashtirish uchun Tris-HCl qo‘shiladi.

Savdani: *Tozalashni tekshirish* - SDS-PAGE orqali oqsilni elektroforezda tahlil qilish, Spektrofotometrda A280 o'lchanadi (1 A.U. = 0.73 mg/ml IgG).

Tozalash usullarining taqqoslanishi

Usul	Asosiy printsipi	Afzalliklar	Kamchiliklari
Protein A/G xromatografiyasi	Ic qism bilan bog'lanadi	Yuqori tozalik, keng qo'llaniladi	Qimmat, barcha Ig turlari uchun emas
Ion almashinuvi xromatografiyasi	Zaryad farqiga asoslanadi	Arzon, katta miqyosda foydali	Maxsus sharoit talab qiladi
Gel filtratsiyasi (SEC)	Molekula o'lchamiga asoslanadi	Yuzashoq usul, tuzlardan tozalanadi	Sekin, past ajratish kuchi
Afinitet xromatografiyasi	Antigen yoki Protein A bilan bog'lanadi	Juda selektiv, yuqori tozalik	Juda qimmat, maxsus materiallar

Nazorat uchun savollar

1. Monoklonal antitana nima?
2. Gibridoma qanday hosil qilinadi?
3. Nima uchun ammoniy sulfat ishlatiladi?
4. Protein A nima uchun kerak?
5. Afinitet xromatografiya qanday ishlaydi?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Monoklonal antitanalarni ishlab chiqarishda birinchi bosqich nima?

- A) Dializ
- B) Gibridoma yaratish
- C) Xromatografiya
- D) Fermentatsiya

2. Gibridoma nima?

- A) Ikki turdagi bakteriya aralashmasi
- B) Gibrid zamburug'

C) B-limfotsit + miyeloma hujayra

D) Virusli hujayra

2. Ammoniy sulfat nima uchun ishlatiladi?

A) Antitanani eritish uchun

B) Antitanani cho'ktirish uchun

C) pHni oshirish uchun

D) Oqsillarni bo'yash uchun

4. Protein A nima bilan bog'lanadi?

A) Albumin

B) IgG ning Fab qismini

C) IgG ning Fc qismini

D) Nuklein kislotalar

5. Afinitet xromatografiya qanday printsiptda ishlaydi?

A) Suvni ajratadi

B) Ioni almashtiradi

C) Oqsillarni o'lchaydi

D) Maxsus ligand-antikor bog'lanishiga asoslanadi

6. Antitananing konsentratsiyasi qanday aniqlanadi?

A) Kolorimetrda

B) Termometrda

C) Spektrofotometrda 280 nm da

D) Mikroskopda

7. Dializ qayer uchun kerak?

A) Oksidlanish uchun

B) Cho'ktirish uchun

C) Tuzlarni chiqarish uchun

D) Rang berish uchun

8. SDS-PAGE nimani aniqlaydi?

A) PH ni

B) DNK ni

C) Oqsilning molekulyar massasini

D) Yuzaki zaryadni

9. Elutsiya qanday amalga oshiriladi?

A) Issiqlik orqali

- B) Past pH yordamida
- C) Yuqori bosim bilan
- D) Filtrlash orqali

10-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Vaksina namunalarini tayyorlash va sifatini baholash

Mashg'ulot maqsadi: Vaksina tayyorlash va uning sifatini baholash bo'yicha talabalarni amaliy ko'nikmalar bilan tanishtirish. Talabalar vaksinalarni tayyorlash jarayonini o'rganishadi, shuningdek, sifat nazorati va baholash usullarini amaliyotda qo'llashni o'zlashtiradilar.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama.

Mavzuning ahamiyati: Vaksina sifatini baholashda samarali va to'g'ri usullarni qo'llash juda muhimdir. Ushbu mashg'ulotda talabalar vaksina ishlab chiqarishning turli bosqichlarini o'rganishadi va sifatni nazorat qilishni bilimlarini amaliyotda qo'llashni o'rganadilar.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar

Jihozlar: Sentifuga (ultrabirgacha), pH-o'lchagich, spektrofotometr (A280), inkubator (37 °C), laminar havo oqimli shkaif

Asbob-uskunalar: Mikropipetkalar (100–1000 µl), steril shprislar va filtrlar (0.22 µm), kolonka xromatografiya tizimi, SDS-PAGE gel uskunasi

Reaktivlar: Fosfat tampon eritmasi (PBS), ammoniy sulfat eritmasi (to'yingan), protein A yoki G Sepharose rezinasi, gibridoma hujayra liniyasi, RPMI-1640 muhit + FBS

Nazariy qism

Vaksina – bu immun tizimini o'rgatib, ma'lum bir kasallikdan himoya qilish uchun ishlab chiqilgan biologik preparat. Vaksinalar patogenlarning (viruslar, bakteriyalar, ularning toksinlari) o'ldirilgan yoki inaktivatsiyalangan shakllarini o'z ichiga oladi.

Vaksinalarning turlari:

- Jonli, zaiflashtirilgan vaksinalar (masalan, BCG, OPV)
- O'ldirilgan (inaktivlangan) vaksinalar (masalan, rabies, IPV)

• **Subbirkka (subunit) vaksinalar** — faqat antigenik qismlari (masalan, Hepatit B)

• **Toksoid vaksinalar** — toksinlarining zaiflashtirilgan shakllari (masalan, difteriya, tetanus)

Vaksinaz ishlab chiqarish jarayoni

Vaksina ishlab chiqarish jarayoni bir nechta bosqichni o'z ichiga oladi:

1 **Antigen ishlab chiqarish:** Patogen mikroorganizmlarni laboratoriya sharoitida o'stirish va ulardan zarur komponentni ajratish.

2 **Inaktivatsiya yoki zaiflashtirish:** Patogenlarning kasallik keltirish xususiyatini yo'qotish. Bu usullar issiqlik, kimyoviy moddalar (masalan, formalin) yoki gamma nurlari yordamida amalga oshiriladi.

3 **Adjuvant qo'shish:** Vaksina immun javobini kuchaytirish uchun zarur bo'lgan modda (alyuminiy tuzlari, skvalen).

4 **Formulyatsiya:** Vaksina faqat antigenlar yoki patogenlarning faolluk qismidan iborat emas, shuningdek, uning haroratga chidamliligi va barqarorligini ta'minlash uchun boshqa komponentlar ham qo'shiladi.

5 **Qadoqlash:** Vaksina jarayonining oxirgi bosqichi, bu jarayon ayniqsa muhim, chunki harorat va transport sharoitlarida sifatni saqlash uchun vakuumli qadoqlash ishlari amalga oshiriladi.

Vaksina sifatini baholash

Vaksinaning sifatini baholash ko'plab testlardan iborat bo'lib, ularning har biri ma'lum talablarga javob berishi kerak:

♦ **Sterillik testi:** Mikrobiologik testlar yordamida vaksina tarkibida patogen mikroorganizmlar yo'qligi tekshiriladi.

♦ **Immunogenlik:** Antikor ishlab chiqarish potentsiali o'lchanadi, bu hayvonlar (masalan, sichqonlar) orqali amalga oshiriladi.

♦ **Toksikologik xavfsizlik:** Vaksina organizmga zarar yetkazmaydiganligini aniqlash uchun toksiklik testi o'tkaziladi.

♦ **Fizik-kimyoviy barqarorlik:** pH darajasi, tuzilish va boshqa fiziko-kimyoviy xususiyatlar aniqlanadi.

♦ **Identifikatsiya testi:** Vaksina tarkibidagi antigen yoki patogenlar tekshiriladi (ELISA, Western blot va qPCR).

Ishni bajarish tartibi

Vaksina namunalarini tayyorlash bosqichlari

1. Patogenni o'stirish- Patogen mikroorganizmlar (bakteriyalar yoki viruslar) mos madaniyat muhitida o'stiriladi. Bakteriyalarni agar yoki suyuq o'sish muhitida (masalan, Luria agar) inkubatsiya qilish kerak. Viruslar uchun esa, o'ziga mos hujayra madaniyati talab qilinadi. Inkubatsiya sharoitlari har bir patogen uchun o'ziga xos bo'lishi kerak (masalan, harorat, pH, va o'sish vaqti).

2. Antigen ajratish va tozalash -Bakteriya yoki virus hujayralari sentrifugalanadi va filtrlanadi. Antigenlarni ajratish uchun har xil fizik-kimyoviy usullar (masalan, ultrasonikasiya) yoki xromatografiya usullari qo'llaniladi.

3. Inaktivatsiya yoki zaiflashtirish-O'ldirilgan yoki inaktivlangan patogenlar uchun, 0.1% formalin yoki 0.01% β -propiolakton eritmasi qo'llanadi. Inaktivatsiya 37°C da 24–48 soat davomida amalga oshiriladi. Inaktivatsiya samaradorligini tekshirish uchun, patogenning o'ldirilganligini tasdiqlovchi testlar (masalan, hayvonlarga inokulyatsiya) o'tkaziladi. Immun javobni kuchaytirish uchun alyuminiy gidroksid yoki skvalen kabi adjuvantlar qo'shiladi. Vaksina 2–8°C da saqlanishi uchun sterillangan butilkalarga to'planadi.

Vaksina sifatini baholash

1. Sterillik testi - Mikrobiologik testlar (sabzavotli bulyon, tioglikolat bulyoni) yordamida vaksina namunasi steril ekanligi tekshiriladi. Agar o'sish kuzatilsa, vaksina partiyasi rad qilinadi.

2. Immunogenlik testi - Eksperimental hayvonlarga vaksina yuborilib, qon olish orqali antikor miqdori o'lchanadi. Antikorlar darajasi statistik tahlil yordamida baholanadi. Agar immun javob kerakli darajaga yetmasa, vaksina samarali emas deb hisoblanadi.

3. Toksikologik xavfsizlik -Vaksina toksikligi sichqonlar yoki quyonlarda test qilinadi.

4. Yuqori dozalar bilan bir nechta hayvonlarga inokulyatsiya qilinadi va ularning umumiy holati, tana harorati va o'lim holatlari tekshiriladi.

5. Fizik-kimyoviy analiz -Vaksinaning pH darajasi, viskozitasi va osmolyariteti tekshiriladi. Haroratga chidamlilik va saqlash muddatlari sinovdan o'tkaziladi.

Nazorat uchun savollar

1. Vaksina nima va uning turlari qanday farqlanadi?
2. Vaksina tayyorlash jarayonining asosiy bosqichlarini sanab bering.
3. Vaksina siratini qanday testlar orqali baholash mumkin?
4. Vaksina ishlab chiqarish jarayonida qanday usullar bilan sterilizatsiya amalga oshiriladi?
5. Toksikologik testda qanday natijalar vaksinaning noxush taʼsirlarini koʻrsatadi?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Qaysi vaksinada jonli, zaiflashtirilgan patogenlar ishlatiladi?
 - a) Oʻldirilgan vaksina
 - b) Jonli, zaiflashtirilgan vaksina
 - c) Subbirkka vaksina
 - d) Toksoid vaksina
2. Vaksina ishlab chiqarishda ishlatiladigan adjuvant qanday maqsadda qoʻllaniladi?
 - a) Antigenni zaiflashtirish
 - b) Immun javobni kuchaytirish
 - c) Vaksinaning saqlanish muddatini uzaytirish
 - d) Barcha javoblar toʻgʻri
3. Vaksina tayyorlashda eng muhim jarayonlardan biri qaysi?
 - a) Antigenni ajratish
 - b) Vaksina nomini tanlash
 - c) Saqlash sharoitlarini oʻrganish
 - d) Sifatni baholash
4. Oʻldirilgan vaksina qanday usul bilan tayyorlanadi?
 - a) Patogenni issiqlik yordamida oʻldirish
 - b) Patogenni kimyoviy moddalar bilan inaktivatsiya qilish
 - c) Jonli patogenlarni zaiflashtirish
 - d) Har bir javob toʻgʻri

5. Vaksina sifatini baholashda qanday test ishlatiladi?

- a) Mikroskopik test
- b) Immunogenlik testi
- c) Termal barqarorlik testi
- d) Barcha javoblar to'g'ri

6. Vaksina ishlab chiqarish jarayonida sterillikni qanday tekshiriladi?

- a) Endotoksin testi
- b) Mikrobiologik madaniyat usullari
- c) Spektrofotometriya
- d) Hamma javoblar noto'g'ri

7. Vaksina inaktivatsiya qilinganidan so'ng qanday testlar amalga oshiriladi?

- a) Toksikologik testlar
- b) Fizik-kimyoviy tekshirishlar
- c) Immunologik tahlillar
- d) Barcha javoblar to'g'ri

8. Vaksina mahsuloti qanday qilib immunogenligini tekshirish mumkin?

- a) Hayvonlarga inokulyatsiya qilish
- b) Agar plitalari bilan sinov qilish
- c) Vaksina pH-ni o'lchash
- d) Antikorlar darajasini o'lchash

9. Vaksinaning to'g'ri saqlanish sharoitlari qanday bo'ladi?

- a) +15°C da saqlash
- b) -4°C da saqlash
- c) +37°C da saqlash
- d) Barcha javoblar to'g'ri

10. Vaksinaning toksikligi qanday aniqlanadi?

- a) Toksikologik sinovlar orqali
- b) Vakcina tarkibidagi o'zgartirishlar orqali
- c) Hayvonlar uchun genetik tekshiruvlar yordamida
- d) Barcha javoblar noto'g'ri

11-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: PCR (polimeraza zanjir reaksiyasi) asoslarini amalda bajarish

Mashg'ulot maqsadi: Talabalarga PCR texnologiyasining nazariy asoslarini va amaliy qo'llanilishini tushuntirish, shuningdek, DNA namunalaridan maqsadli fragmentlarni ko'paytirish amaliyotini o'rgatish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: PCR – zamonaviy molekulyar biologiyada keng qo'llaniladigan kuchli vosita bo'lib, genetik tadqiqotlar, diagnostika, forensika, va biotexnologik tahlillarda ajralmas hisoblanadi. PCR yordamida maqsadli DNK qismlarini qisqa vaqt ichida millionlab nusxalarga ko'paytirish mumkin. Uni amaliy o'rganish talabalarni ilmiy-tekshirish ishlariga tayyorlaydi.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar

Jihozlar: Mikropipetkalar (0.5–1000 μ l), PCR naychalari (0.2 ml), Steril shprislar va filtrlar (0.22 μ m),

Asbob-uskunalar: PCR apparati (termotsikler), elektroforez jihozlari, Kolonka xromatografiya tizimi, SDS-PAGE gel uskunasi

Reaktivlar: DNK namunasi, Taq polimeraza fermenti, Primers (Ikkita), Reaksiya buferi, Steril suv (nuclease-free), Agaroz geli

Nazariy qism

Polimeraza zanjir reaksiyasi (PCR) – bu ma'lum bir DNK fragmentini in vitro sharoitda ko'p nusxaga ko'paytirishga mo'ljallangan molekulyar biologik usuldir. PCR 1983 yilda **Kary Mullis** tomonidan ixtiro qilingan.

PCR jarayonining bosqichlari:

➤ **Denaturatsiya (94–96°C):** DNK ikki zanjirli tuzilmasi issiqlik ta'sirida ajraladi.

➤ **Primerlar birikishi (50–65°C):** DNK fragmentlariga mos keladigan qisqa primerlar DNKga birikadi.

• **Uzayish (72°C):** Taq polimeraza fermenti primerdan boshlab yangi DNK zanjirini sintez qiladi.

Bu uch bosqich har bir siklda qaytalanadi (odatda 25–35 sikl). Natijada, har bir siklda DNK miqdori eksponensial o'sadi.

PCR tarkibiy qismlari:

Komponent	Vazifasi
DNK matritsa	Ko'paytiriladigan maqsadli DNK
Primerlar	DNKni aniqlik bilan boshlovchi qismlar
Taq polimeraza	Yangi DNK zanjirini sintez qiladi
dNTP	DNK qurilishi uchun substratlar
Bufar	Optimal pH va ion muhitini saqlaydi
MgCl ₂	Ferment faolligi uchun zarur kofaktor

Reaksiya bajarish tartibi

Reaksiya aralashmasini tayyorlash

PCR naychasiga quyidagilar qo'shiladi:

Komponent	Miqdori (20 µl uchun)
DNK namunasi	1 µl
Primer 1 (Forward)	1 µl
Primer 2 (Reverse)	1 µl
dNTP mix (10 mM)	0.4 µl
10X PCR bufer	2 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1 µl
Taq polimeraza (5 u/µl)	0.2 µl
Steril suv	13.4 µl

Harcha komponentlar steril sharoitda, muz ustida mikropipetka yordamida aralashtiriladi.

PCR dasturini sozlash (termotsiklarga yuklash)

Bosqich	Harorat	Vaqt	Sikllar
1 Denaturatsiya	95°C	3 daqiqa	1 marta
2 Denaturatsiya	95°C	30 soniya	30 marta
3 Primer birikishi	55–60°C	30 soniya	30 marta
4 Uzayish	72°C	1 daqiqa	30 marta
5 Yakuniy uzayish	72°C	5 daqiqa	1 marta
6 Soqilash	4°C	Cheksiz	-

PCR termociklizerida reaksiya o'tkazish

Termociklizerni sozlash:

Denaturatsiya: 94-98°C, 30 soniya. DNKning ikki i'ini ajratish uchun kerak.

Annealing (primerlar bilan birikish): 50-65°C, 30 soniya. Primerlar o'zlarining mos DNK segmentlariga bog'lanadi.

Elongatsiya (uzaytirish): 75-80°C, 1-2 minut. Taq polimeraza yordamida yangi DNK zanjirlarini sintez qilish.

Siklni takrorlash: Barcha jarayonni 30-40 sikl davomida takrorlang. Har bir sikl:

Denaturatsiya (94-98°C), Primerlar bilan birikish (50-65°C), Elongatsiya (75-80°C)

Termociklizerda reaksiyani tugatish: PCR mikroskopik silindrni termociklizerdan olib, reaksiya tugaganligini tasdiqlang.

PCR mahsulotini tekshirish (Agaroz elektroforezi)

Agaroz gelini tayyorlash: Agarozni 1-2% konsentratsiyada tayyorlash. 60°C da eritib, gelni to'g'ri shaklga solib, plastinka yoki hujayraga solib sovutish.

PCR mahsulotini gelga yuklash: PCR reaksiyasidan olingan mahsulotni pipetka yordamida agaroz geliga joylashtiring. Etidiom bromidini agarozga qo'shing, bu DNKni UV nurida ko'rish imkonini beradi.

Elektroforez o'tkazish: Agaroz gelni elektroforez apparatiga joylashtirib, kerakli voltajni o'rnatish. Elektroforez jarayonini bajarish va DNK fragmentlarini tahlil qilish.

Natijalarni tahlil qilish: UV nurida DNK fragmentlarini ko'rib, PCR mahsulotining muvaffaqiyatli ko'paytirilganligini tasdiqlash.

PCR natijalarini tahlil qilish

1. Agaroz gel elektroforezi yordamida PCR mahsulotlarini ko'rish.
2. To'g'ri PCR mahsuloti aniqlangan bo'lsa, u ma'lum bir genetik segmentga mos bo'lgan DNK fragmentini hosil qiladi.
3. Agar aralashmalar yoki noto'g'ri natijalar bo'lsa, jarayonni qayta tekshirib chiqish va xatoliklarni tuzatish kerak.

Nazorat uchun savollar

1. PCR usulining qanday bosqichlari mavjud?
2. PCRni bajarish uchun qanday reagentlar ishlatiladi?
3. PCR termociklizerini qanday sozlash kerak?
4. PCR mahsulotini qanday tekshirish mumkin?
5. PCR reaksiya jarayonida denaturatsiya qaysi haroratda amalga oshiriladi?

Nazorat uchun test savollari

1) PCR usulida eng muhim reaksiya bosqichlari qanday?

- a) Denaturatsiya, primerlar bilan birikish, elongatsiya
- b) Denaturatsiya, elongatsiya, degidratatsiya
- c) Filtratsiya, denaturatsiya, elongatsiya
- d) Tushunmovchilik

2) PCR reaksiya uchun asosiy ferment nima?

- a) Ligaza
- b) Taq polimeraza
- c) Katalaza
- d) Amilaza

3) PCRda DNK qanday haroratda ajratiladi?

- a) 50°C
- b) 65°C
- c) 94-98°C
- d) 70°C

4) PCRda qaysi elementlar primer sifatida ishlatiladi?

- a) DNK shablon
- b) dNTP
- c) Forward va reverse primerlar
- d) Agaroz gel

5) PCR reaksiyasi qaysi qurilmada amalga oshiriladi?

- a) Termociklizer
- b) Mikroskop

c) Spektrofotometr

d) Ultratsentrifuga

6) PCRda yangi DNK zanjirlarini sintez qilish uchun qaysi ferment ishlatiladi?

a) Taq polimeraza

b) DNK ligaza

c) Eksonukleaza

d) RNK polimeraza

7) PCR reaksiyasida qaysi modda DNK fragmentlarini tahlil qilishda ishlatiladi?

a) Agaroz gel

b) DNAase

c) Etidiom bromid

d) Metanol

8) PCR natijasida qancha sikl davomida DNK ko'payadi?

a) 5-10 sikl

b) 10-20 sikl

c) 30-40 sikl

d) 100-150 sikl

12-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: GMO organizmlarni identifikatsiyalash usullari

Mashg'ulot maqsadi: Bu amaliy mashg'ulot orqali talabalar GMO organizmlarni identifikatsiya qilish uchun ishlatiladigan asosiy usullar bilan tanishadilar.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: GMO organizmlarini identifikatsiyalash usullari zamonaviy farmatsevtik biotexnologiyaning muhim qismi hisoblanadi.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar: PCR termociklizeri, Mikropipetkalar (10-1000 μ l), DNA shablони (GMO namunasi), Forward va reverse primerlar (GMOga xos genlar uchun), dNTP (doksiribonukleotid trifosfatlar), Taq polimeraza, Agaroz gel elektroforez tizimi, Spektrofotometr, sentrifuga, Xromatografiya asboblari (agaroza, HPLC).

Nazariy qism:

GMO (Genetik jihatdan o'zgartirilgan organizmlar) — bu sun'iy ravishda genetik modifikatsiya qilingan organizmlar bo'lib, ularning DNKsi laboratoriya sharoitida o'zgartirilgan. Bu modifikatsiya organizmning yangi xususiyatlarini, masalan, kasalliklarga chidamlilik, pestitsidlar yoki o'g'itlarga qarshilik ko'rsatishni yaratish uchun amalga oshiriladi. GMOlar asosida turli xil mahsulotlar, jumladan qishloq xo'jaligi o'simliklari, hayvonlar va mikroorganizmlar ishlab chiqariladi.

GMOlarni identifikatsiyalashda asosan quyidagi maqsadlar kuzatiladi:

✓ **GMO nazorati:** Qishloq xo'jaligi va oziq-ovqat mahsulotlaridagi GMOlarni nazorat qilish.

✓ **Xavfsizlik tahlili:** GMOlarning salomatlikka va atrof-muhitga ta'sirini baholash.

✓ **Huquqiy talablar:** GMolar uchun qonuniy me'yorlarga rioya qilish.

GMO identifikatsiyasining asosiy usullari

1.PCR (Polimeraza Zanjir Reaksiyasi). PCR usuli – bu eng keng tarqalgan usul bo'lib, u ma'lum bir genetik sekvensiyani ko'paytirish orqali GMOlarni aniqlash imkonini beradi. PCR orqali GMOga xos bo'lgan gen (masalan, *Agrobacterium tumefaciens* yoki 35S promotor genini) amplifikatsiya qilinadi. PCR, GMO mahsulotlarida mavjud bo'lgan genetik modifikatsiyalarni aniqlashda qo'llaniladi.

2.Enzimga bog'langan immunosorbent test (ELISA). ELISA usuli GMOlarning xos antikorlarini aniqlash uchun ishlatiladi. Bu test orqali GMO mahsulotlarining oqsil tarkibi tahlil qilinadi. Ular odatda GMO organizmlariga xos oqsillarni aniqlashda ishlatiladi, masalan, Bt-toxin oqsili.

3.Agaroz gel elektroforezi.PCR mahsulotlarini tahlil qilish uchun agaroz gel elektroforezidan foydalaniladi. Bu usulda PCR orqali ko'paytirilgan DNK fragmentlari gelda taqsimlanadi va UV nurida ko'rinadi. Bu usul GMO mavjudligini tasdiqlashda qo'llaniladi.

4.Xromatografiya (HPLC). HPLC (Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi) usuli, GMO mahsulotlaridagi maxsus kimyoviy moddalarning mavjudligini aniqlashda qo'llaniladi. Bu usul GMO mahsulotlarining tarkibida mavjud bo'lgan modifikatsiyalarni aniqlash uchun ishlatiladi.

5.Southern blot tahlili. Southern blot usuli genomda ma'lum bir genetik sekvensiyani aniqlashda ishlatiladi. Bu usul orqali PCR mahsulotlari markirovka qilingan prob yordamida genomga integratsiyalashgan genlarni aniqlash mumkin.

Ishni bajarish tartibi:

Na'muna tayyorlash: Na'muna sifatida GMO o'simlik yoki mahsulotning DNK namunasi olinadi. Agar mahsulot oziq-ovqat bo'lsa, undagi DNKni ekstraktsiya qilish uchun bir necha bosqichdan o'tish kerak. Mikropipetka yordamida DNKni test tube yoki mikro-tubaga joylashtiring.

Reagentlar tayyorlash:

1. **PCR buffer:** 10x PCR buffer, $MgCl_2$, dNTP (A, T, C, G).

2. **Primerlar:** GMO organizmlariga xos bo'lgan primerlarni tanlang (masalan, 35S promotor).

3. **Taq polimeraza:** PCRni amalga oshiradigan ferment.

PCR mikroskopik silindriga reagentlarni qo'shish: 1 μl DNK shablonidan (gen yoki ma'lum DNK sekvensiyasi), 0.5 μM forward va reverse primerlar, 0.2 mM dNTP, 1 μl Taq polimeraza (5 U/ μl).

Termociklizerga joylashtirish: Denaturatsiya: 94°C, 30 soniya, Primerlarning birikishi: 50°C, 30 soniya, Elongatsiya: 75°C, 1 minut,

PCR mahsulotini tekshirish⁴ (agaroz gel elektroforezi): Agaroz gel yordamida PCR mahsuloti bo'yicha elektroforez o'tkaziladi, UV nurida natijalarni tekshirish.

Nazorat uchun savollar

1. GMO organizmlarini identifikatsiya qilishning asosiy molekulyar-biologik usullarini sanab bering.

2. PCR (polimeraza zanjir reaksiyasi) usuli GMO ni aniqlashda qanday qo'llaniladi?

3. ELISA usuli GMO mahsulotlaridagi oqsillarni aniqlashda qanday afzalliklarga ega?

4. GMO organizmlarini identifikatsiyalashda genetik markerlarning roli nimada?

5. GMOlarni aniqlashda klassik usullar (morfologik, biokimyoviy) va zamonaviy molekulyar usullarni solishtiring.

Mavzu yuzasidan test savollari

1. GMO nima?

- a) Sun'iy ravishda genetik modifikatsiya qilingan organizmlar
- b) Tabiiy ravishda o'zgargan organizmlar
- c) Genetik jihatdan tabiiy holda shakllangan organizmlar
- d) Xatolik bilan genetik materialni o'zgartirish

2. PCR yordamida GMO ni aniqlash uchun qaysi genetik elementlar ishlatiladi?

- a) Taq polimeraza
- b) GMO ga xos bo'lgan genlar (masalan, 35S promotor)
- c) Agaroz
- d) Etidiom bromid

3. GMO organizmlarini identifikatsiyalashda eng ko'p ishlatiladigan metod nima?

- a) Xromatografiya
- b) PCR (Polimeraza zanjir reaksiyasi)
- c) Mikroskopiya
- d) Spektrofotometriya

4. ELISA testining maqsadi nima?

- a) GMO ni DNK darajasida aniqlash
- b) GMO ga xos oqsillarni aniqlash
- c) Oziq-ovqatdagi vitaminlarni aniqlash
- d) Mahsulotdagi bakterial infeksiyani aniqlash

5. PCR usulida denaturatsiya bosqichi qanday haroratda amalga oshiriladi?

- a) 50°C
- b) 65°C
- c) 94-98°C
- d) 70°C

6. GMO ni aniqlashda agaroz gel elektroforezi qanday yordam beradi?

- a) Genetik materialni aralashtiradi
- b) PCR mahsulotlarini ajratib beradi
- c) Oqsillarni ajratadi
- d) Genlar orasidagi mutatsiyalarni aniqlaydi

7. PCR reaksiyasi qanday asosiy bosqichlardan iborat?

- a) Tahlil, inkubatsiya, qizdirish
- b) Denaturatsiya, annealing, elongatsiya
- c) Ko'paytirish, qizdirish, ajratish
- d) Primerlarni qo'shish, inkubatsiya, tahlil

8. G.MOni identifikatsiya qilishda qaysi metod o'simliklar va hayvonlar tomonidan ishlab chiqarilgan oqsillarni tahlil qilishda ishlatiladi?

- a) PCR
- b) ELISA
- c) Agaroz gel elektroforezi
- d) Xromatografiya

9. PCRda qaysi modda DNKni ko'paytirish uchun ishlatiladi?

- a) Taq polimeraza
- b) dNTP
- c) Primerlar
- d) Barchasi yuqoridagilardan

10. Xromatografiya usuli G.MOni identifikatsiyalashda qanday ishlatiladi?

- a) DNKni amplifikatsiya qilish
- b) Mahsulot tarkibidagi kimyoviy moddalarning aniqlanishi
- c) Proteinlar tahlili
- d) Genetik kodni o'zgartirish

13-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Fermentativ reaksiyalarni o'rganish

Mashg'ulot maqsadi: Bu amaliy mashg'ulotning asosiy maqsadi talabalarga fermentativ reaksiyalarni o'rganish, fermentlarning faoliyatini tushunish va ularni tahlil qilish usullarini o'rgatishdir.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Fermentlar, biologik tizimlarda energiya almashinuvi va turli kimyoviy jarayonlarni amalga oshiruvchi markaziy omil bo'lib, ular quyidagi maqsadlarga erishadilar:

- Fermentlar va ularning biologik rolini tushunish.
- Fermentativ reaksiyalarni laboratoriya sharoitida o'rganish.
- Fermentlarning faolligini va ularning reaksiya tezligini o'lchash.
- Fermentativ reaksiya sharoitlarining ta'sirini aniqlash (temperatura, pH, substrat konsentratsiyasi va h.k.).

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar: Mikro-tubalardan iborat reaktivlar (substratlar, bufferlar, enzimi), mikropipetkalar (10-1000 μ l), pH-metr yoki pH-indikatorlar, spektrofotometr, termometr, ferment (masalan, amilaza, katalaza, lipaza), so'lak namunasi, kraxmal eritmasi (1%), lugol eritmasi (yod + KI), Fosfat-bufer eritmasi (pH 6.8-7.0), distillangan suv, spirt (70%)

Nazariy qism:

Fermentlar — bu biologik katalizatorlar bo'lib, ularning asosiy vazifasi kimyoviy reaksiyalarni tezlashtirishdir. Fermentlar organik katalizatorlar sifatida ishlaydi va ular substratlarning kimyoviy bog'larini sintez qilish, uzish yoki modifikatsiya qilish orqali energiya sarfini kamaytiradi. Fermentlar o'zining aktiv joyiga ega bo'lib, bu joy substratlar bilan bog'lanadi va ularning reaksiyaga kirishishini osonlashtiradi. Fermentlar o'z faoliyatini faqat ma'lum sharoitlarda (masalan, harorat, pH, ion konsentratsiyasi) amalga oshiradi. Fermentlar ikki turga bo'linadi:

1. **Ekstraktsiyalar fermentlari:** Tabiiy o'simliklardan yoki hayvonlardan olinadi.

2. **Rekombinant fermentlar:** Mikroorganizmlar yordamida ishlab chiqariladi. Fermentativ reaksiyalar bir necha asosiy bosqichdan iborat:

- **Substrat bilan kompleks hosil bo'lishi:** Fermentning aktiv joyi substrat bilan bog'lanadi.

- **Reaksiya jarayoni:** Substratlar kimyoviy o'zgarishga uchrab, yangi moddalarga aylanadi.

- **Reaksiya tugallanishi:** Yangi mahsulotlar ajralib chiqadi va ferment o'z faoliyatini davom ettirishga tayyor bo'ladi.

Fermentlarning faolligi turli omillarga bog'liq, jumladan:

- **Temperatura:** Harorat yuqori bo'lsa, fermentlar tez ishlaydi, lekin juda yuqori haroratda ularning tuzilishi buziladi va faoliyati yo'qoladi.

- **pH:** Har bir ferment ma'lum pHda faol bo'ladi. Masalan, pepsin oshqozon kislotali sharoitda faol, amilaza esa neytral sharoitda faol.

- **Substrat konsentratsiyasi:** Substratning konsentratsiyasi oshishi bilan reaksiyaning tezligi ortadi, ammo ma'lum bir nuqtada ortiqcha substrat reaksiyani sekinlashtiradi.

Ishni bajarish tartibi

Namuna tayyorlash: 2–3 ml so'lak yig'iladi (steril idishga). Namuna 4 °C da vaqtincha saqlanadi. So'lak 5000 rpm da 5 daqiqa sentrifugalanadi. Supernatant (ustki suyuqlik) ferment manbai sifatida ishlatiladi.

Reaksiya aralashmasini tayyorlash: Probirkaga quyidagilar ketma-ketlikda qo'shiladi:

- 1 ml 1% kraxmal eritmasi (substrat)
- 1 ml fosfat bufer eritmasi (pH 6.8)
- 0.5 ml tozalangan so'lak (ferment)

Aralashma ehtiyotkorlik bilan aralashtiriladi va 37 °C da 10–15 daqiqa davomida suv hammomida inkubatsiya qilinadi.

Reaksiyani to'xtatish va tekshirish:

Inkubatsiya tugagach, har bir probirkadan kichik miqdorda (bir necha tomchi) eritma Petri idishiga yoki oq qog'ozga tomiziladi. Unga

1–2 tomchi Lugol eritmasi qo‘shiladi. Yod kraxmal bilan reaksiyaga kirishib, uni ko‘k-binafsha rangga bo‘yaydi. Agar kraxmal parchalangani bo‘lsa, rang o‘zgarishi bo‘lmaydi yoki juda och bo‘ladi.

Natija

Kuzatilgan rang	Xulosa
Qo‘raltir ko‘k-binafsha	Kraxmal parchalanmagan – ferment yo‘q
Och rang yoki rangsiz	Kraxmal parchalangani – ferment mavjud

Nazorat uchun savollar

1. So‘lakdagi amilaza fermenti qanday substratga ta‘sir qiladi va bu qanday mahsulotga aylanadi?
2. Amilaza fermentining faolligini aniqlash uchun ishlatiladigan Lugol eritmasining vazifasi nima?
3. Ferment reaksiyasi uchun optimal pH va harorat sharoitlari qanday bo‘ladi?
4. So‘lakdagi amilaza fermentini ajratishda nima uchun sentrifuga ishlatiladi?
5. Lugol eritmasi bilan tajriba o‘tkazilganda kuzatilgan rang o‘zgarishi ferment faolligi haqida qanday ma‘lumot beradi?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Fermentlar qanday asosiy xususiyatlarga ega?

- a) Biologik katalizatorlar sifatida kimyoviy reaksiyalarni tezlashtiradi
- b) Substratlar bilan faqat mexanik reaksiyalarga kirishadi
- c) O‘z faoliyatini faqat yuqori haroratda amalga oshiradi
- d) Ularning faolligi muayyan pH bilan cheklangan emas

2. Fermentlarning faolligi nima bilan bog‘liq?

- a) Faqat substratning miqdori
- b) Harorat, pH, substrat konsentratsiyasi va enzimi tuzilishi
- c) Oqsil sintezi va fermentning tarkibi
- d) Barcha yuqoridagilardan

3. Qaysi metod fermentativ reaksiyaning tezligini o'lchashda eng ko'p ishlatiladi?

- a) Spektrofotometriya
- b) Volumetrik usul
- c) Aga-oz gel elektroforezi
- d) Mikroskopiya

4. Fermentlarning aktivligi faqat qanday sharoitda maksimal darajada bo'ladi?

- a) Dunyodagi barcha pH va haroratda
- b) Har bir fermentning o'ziga xos optimal pH va harorati mavjud
- c) Harorat va pH darajasi bu muhim emas
- d) Faollik faqat substrat miqdoriga bog'liq

5. Fermentativ reaksiyada substrat nima qiladi?

- a) Fermentni inhibe qiladi
- b) Ferment bilan bog'lanib, mahsulotga aylanadi
- c) Faoliyatni sekinlashtiradi
- d) Fermentning pH darajasini o'zgartiradi

6. PCR (Polimeraza Zanjir Reaksiyasi) usulida qanday natijalar olinadi?

- a) Substratni va fermentni ajratib olish
- b) DNKni ko'paytirish
- c) Reaksiya tezligini o'lchash
- d) Fermentni aniqlash

7. Fermentativ reaksiyada nima bo'ladi, agar harorat juda yuqori bo'lsa?

- a) Fermentning tuzilishi buziladi va faoliyatini yo'qotadi
- b) Reaksiya tezligi ortadi
- c) Substrat konsentratsiyasi oshadi
- d) Ferment yanada faollashadi

8. Agaros gel elektroforezi fermentativ reaksiyalarda qanday ishlatiladi?

- a) Fermentlarning substrat bilan bog'lanishini o'lchash
- b) PCR mahsulotlarini tahlil qilish

c) Reaksiya tezligini aniqlash

d) Fermentlarning tuzilishini aniqlash

9. Fermentning faolligiga pH darajasining ta'siri qanday?

a) Har bir ferment ma'lum pHda eng yaxshi ishlaydi

b) pH har doim reaksiyani tezlashtiradi

c) pH faqat substratning miqdoriga bog'liq

d) pHning ta'siri yo'q

10. Fermentativ reaksiya tezligi qanday o'lchanadi?

a) Fermentning tarkibi bo'yicha

b) Substratning kamayishi yoki mahsulotning ko'payishini o'lchash orqali

c) Reaksiya silindrining og'irligi bilan

d) Fermentning faolligini va pHni hisoblash orqali

14-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Biotexnologik dori vositalarining sterilligi va apirogenligini tekshirish

Mashg'ulot maqsadi: Amaliy mashg'ulotning asosiy maqsadi talabalarni biotexnologik dori vositalarining sterillik va apirogenlikni tekshirish usullari bilan tanishtirish, bu usullarni laboratoriya sharoitida qanday qo'llashni o'rgatishdir.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Biotexnologik dori vositalari, ayniqsa, mikroblar yoki ularning metabolik mahsulotlari bilan ishlab chiqarilgan bo'lsa, ularning steril bo'lishi va apirogenligini ta'minlash eng muhim talabdir.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar: Sterilizatsiya uskunalari (avtoklav, filtrlash tizimlari), mikroskop, petri idishlari, inkubator, o'tkir uskunalar (pipetkalar, steril shpritslar), spektrofotometr (apirogenlikni o'lchash uchun), mikrobiologik agarlar (saburo, miyo agar va boshqalar), apirogenlikni aniqlash uchun reaktivlar (LAL test uchun reaktivlar), agaroz yoki suyuq media (sterillash va tahlil uchun), biotexnologik dori namunasi, petri idishlari va lampa.

Nazariy qism

Dori vositalarining sterilligi

Sterillik — bu mikroorganizmlar yoki patogenlarning bo'lmashligini anglatadi. Biotexnologik preparatlar uchun bu xususiyat eng muhim talablardan biridir, chunki infeksiyon kasalliklar yoki o'tkir allergik reaksiyalarni keltirib chiqaradigan mikroblar va ularning toksinlari yuqori xavf tug'diradi. Sterillikni tekshirishda quyidagi metodlar qo'llaniladi:

Direkt mikroskopik tekshiruv: Biotexnologik dori preparatining mikroskopik ko'rinishini tekshirish, ularning mikroorganizmlar yoki patogenlarni o'z ichiga olmasligini tasdiqlash.

Koloniyalarning rivojlanishi: Agar biron-bir mikroorganizmlar mavjud bo'lsa, ular agar media ustida koloniyalar hosil qilishi mumkin. Petri idishlariga urug'langan preparatning inkubatsiyasi orqali bakterial yoki fungal kontaminatsiya aniqlanadi.

Filtrlash orqali sterilizatsiya va tahlil: Biotexnologik preparatlarni steril filtrlar orqali o'tkazish va natijalarni tahlil qilish. Agar preparatdagi mikrob kontaminatsiyasi mavjud bo'lsa, u filtr orqali o'tmaydi.

Apirogenlik

Apirogenlik — bu dori vositasining endotoksinlarni (bakterial toksinlar) o'z ichiga olmasligidir. Endotoksinlar odam organizmiga kirganida og'ir allergik reaksiyalar va sepsis kabi xavfli holatlar yuzaga kelishi mumkin. Apirogenlikni tekshirishda ishlatiladigan usullar:

Limulus amoebocyte lysate (LAL) testi: Bu test endotoksinlarni aniqlash uchun ishlatiladi. LAL — *Limulus polyphemus* (dengiz hayvonlari) qonining o'zgarmas hujayralari bo'lib, endotoksinlar bilan reaksiyaga kirishadi va o'zgarmas moddalarni chiqaradi. Bu usul juda sezgir va aniqligi yuqori.

In vivo testlar: Hayvonlar (masalan, sichqonlar) yordamida preparatning apirogenligini tekshirish. Agar hayvonlar tana harorati ortsa yoki boshqa ko'rsatkichlar o'zgarib ketsa, dori vositasida endotoksinlar mavjudligi tasdiqlanadi.

Ishni bajarish tartibi

1. Sterillikni tekshirish

Sterillik sinovida glyukoza eritmasidan namuna olish uchun avvalo to'liq steril sharoit yaratish kerak. Namuna olish jarayoni laminar havo oqimli shkafda yoki boshqa steril ish joyida bajariladi. Steril shprits va filtrlar (0,22 mikronli) yordamida glyukoza eritmasidan 10 ml dan namuna olinadi. Agar namuna shisha idishda bo'lsa, yuzasini 70% spirt bilan tozalash va namuna olish uchun steril naycha ishlatiladi.

2. Namunani inokulyatsiya qilish: Sterillik sinovi uchun glyukoza eritmasidan olingan namuna ikkita turdagi ozuqa muhitlariga inokulyatsiya qilinadi:

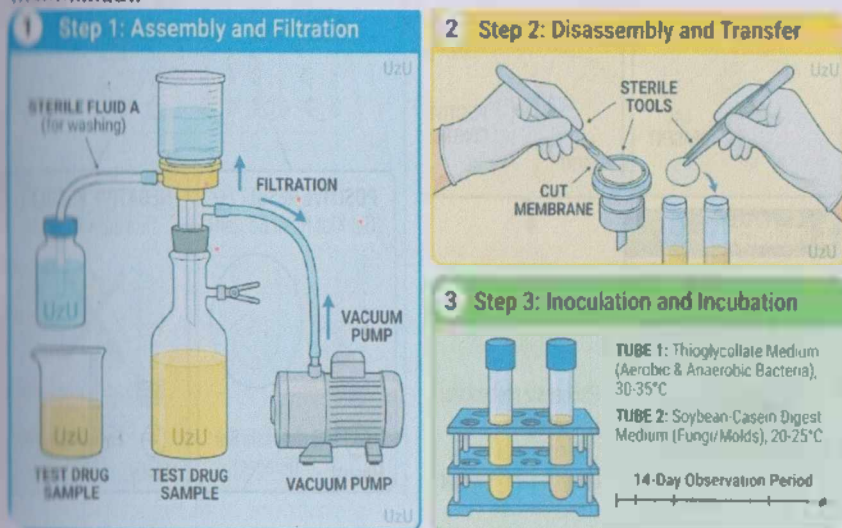
Go'sht pepton bulyoni (GPB) — aerob bakteriyalar va zamburug'larni ko'paytirish uchun.

Thioglikolat bulyoni (TGB) — anaerob bakteriyalar uchun.

Har bir muhitga glyukoza eritmasidan aniq miqdorda qoʻshiladi (umumiyda 1-5 ml). Inokulyatsiya jarayoni steril sharoitda amalga oshiriladi.

3. Inkubatsiya va monitoring

Inokulyatsiya qilingan muhitlar ikki xil haroratda inkubatsiya qilinadi: 20–25 °C (zamburugʻlar va aerob bakteriyalar uchun), 30–35 °C (anaerob va aerob bakteriyalar uchun), muddati — 14 kun. Bu muddat davomida har kuni ozuqa muhitlari tekshiriladi va mikroorganizmlar oʻsishi (bulutlanish, koloniya paydo boʻlishi) kuzatiladi. Agar oʻsish aniqlansa, glyukoza eritmasi steril emas, agar oʻsish yoʻq boʻlsa — steril hisoblanadi.



14.1-rasm

Apirogenlikni tekshirish jarayoni

1. Namuna tayyorlash: Apirogenlik sinovida glyukoza 5% eritmasidan steril sharoitda, sterillikka rioya qilib 1 ml namuna olinadi. Agar eritma steril filtdan oʻtgan boʻlsa, bu sinovda bu jihat alohida eʼtiborga olinadi.

2. LAL testi (Limulus Amebocyte Lysate testi): Hozirgi kunda apirogenlikni tez va aniq aniqlash uchun LAL testi keng qo'llaniladi. Glyukoza eritmasi namunasi LAL reaktiviga qo'shiladi. Ma'lum vaqt davomida reaksiyaga qoldiriladi. Agar eritmada pirogenlar mavjud bo'lsa, gel hosil bo'ladi. Gel hosil bo'lmasa, eritma apirogen hisoblanadi.

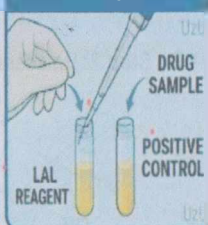
LAL-Test (Gel-Klot Usuli): Pirogenlikni Tekshirish.

A. Bajarish Tartibi

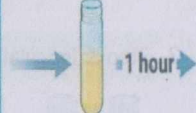
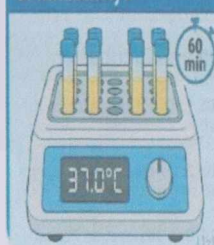
1. Reagentni Tayyorlash



2. Namuna Qo'shish

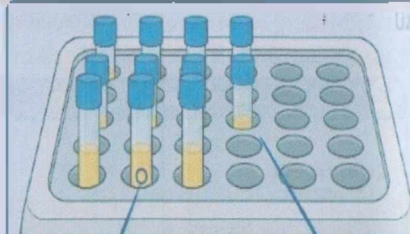


3. Inkubatsiya

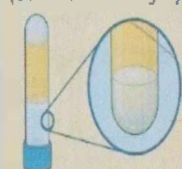


- Pirogensiz proburkalar
- LAL reagenti
- Dori namunasi
- Ijoiy va salbiy nazorat

B. Natijalarni Sharhlash

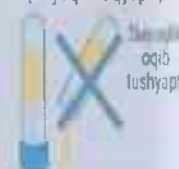


POSITIVE RESULT (+) (Gel-Klot Hosil Bo'lgan)



**(+) Endotoksin Bor
(Pirogen)**
Musbat

NEGATIVE RESULT (-) (Suyuqlik Oqyapti)



**(-) Endotoksin Yo'q
(Apirogen)**
Manfiy

14.2-rasm

Natijalarni qayd etish va baholash

Sterillik sinovlari natijalari asosida glyukoza eritmasida mikroorganizmlar mavjudligi aniqlanadi. Agar har qanday o'sish paydo bo'lsa, eritma steril emas deb topiladi va u qayta sterilizatsiyadan o'tkazilishi lozim. Apirogenlik sinovi natijalari (limfa cho'chqasi haroratining o'zgarishi yoki LAL testi natijalari) ham qayd qilinadi.

Pirogen moddalar aniqlangan taqdirda eritma apirogen emas deb baholamadi.

Nazorat uchun savollar

1. Sterillikni tekshirish usullari nimalardan iborat?
2. Apirogenlikni tekshirishda LAL testining ahamiyati qanday?
3. Biotexnologik dori vositalarining sterilligi va apirogenligini tekshirishda qanday asbob-uskunalar ishlatiladi?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Biotexnologik dori vositalarining sterilligi qanday tekshiriladi?

- a) PCR testi orqali
- b) Agar media ustida koloniyalarni rivojlantirish orqali
- c) Xromatografiya yordamida
- d) Spektrofotometriya bilan

2. Apirogenlik nima?

- a) Dori vositasida mikroob mavjud bo'lmashligi
- b) Dori vositasida endotoksinlar mavjud emasligi
- c) Dori vositasining yaroqlilik muddati
- d) Dori vositasining faollik darajasi

3. LAL testi qaysi holatda qo'llaniladi?

- a) DNK tahlil qilishda
- b) Sterillikni aniqlashda
- c) Apirogenlikni aniqlashda
- d) Oqsil sintezi aniqlashda

4. Sterillikni tekshirishda qanday muhitdan foydalaniladi?

- a) Fosfat buffer
- b) Agar oziqlantiruvchi muhit
- c) Izotonik eritma
- d) Formalin eritmasi

5. Dori vositasi ustida koloniyalar rivojlanmаса, bu nimani anglatadi?

- a) Dori vositasi faolsiz

b) Dori vositasi tozalangan

c) Dori vositasi steril

d) Test noto'g'ri bajarilgan

6. LAL testining asosiy komponenti qayerdan olinadi?

a) Odam qonidan

b) Dengiz yulduzidan

c) Atirgul ildizidan

d) Limulus (at nalimi) gemolimfasidan

7. In vivo apirogenlik testi qaysi hayvonlarda ko'p qo'llaniladi?

a) Sigir

b) Sichqon yoki to'ng'iz

c) Quyon yoki mushuk

d) Odam

8. Dori vositasida endoteksin aniqlansa, bu holat qanday baholanadi?

a) Preparat steril

b) Preparat apirogen

c) Preparat toksik hisoblanadi

d) Preparat yuqori sifatli

9. Sterilizatsiya qanday usulda amalga oshiriladi?

a) Sovitish orqali

b) Ultrasonik tozalash

c) Avtoklavlash yoki filtratsiya orqali

d) Mikroskopik kuzatuv bilan

10. Apirogen test natijalarini qanday aniqlanadi?

a) Rangi o'zgarishi yoki koagulyatsiya

b) Mikroorganizmlarning o'sishi

c) Elektrokimyoviy signallar

d) Yorug'lik sochilishi

15-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Gen muhandisligida plazmidlar bilan ishlash

Mashg'ulot maqsadi: Amaliy mashg'ulotning maqsadi talabalarni genetik modifikatsiya jarayonida plazmidlar bilan ishlash usullari bilan tanishtirish, plazmidlarni ajratish, tayyorlash va genetik manipulyatsiyalarni amalga oshirishda qanday foydalanilishini o'rgatishdir.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Muvzuning ahamiyati: Plazmidlar gen muhandisligi, bioteknologiya va dori ishlab chiqarishda keng qo'llaniladi. Ular genlarni tashishda, yangi xususiyatlarni genetik materialga kiritishda va mikroorganizmlarga yangi qobiliyatlar berishda ishlatiladi. Plazmidlar yordamida transgenik organizmlar ishlab chiqarish, biofarmatsevtik preparatlarni ishlab chiqarish, shuningdek, biologik xavfsizlikni ta'minlash uchun kerakli vositalarni yaratish mumkin.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar: Mikroskop (plazmidlarning vizualizatsiyasi uchun), pipetkalar (DNA o'lchovlari va namunalarni olish uchun), elektroforez tizimi (plazmidlarni ajratish uchun), agaroz yoki agarose gel (elektroforez uchun), termociklyer (PCR reaksiyasi uchun), sentrifuga (plazmidlarni ajratish va to'plash uchun), agar agar (bakterial madaniyatlar uchun), plazmid DNK (tajriba uchun), enzimlar (HindIII, EcoRI, HindIII, va boshqa restriksion enzimlar), ligazalar (klonlash va genetik manipulyatsiyalar uchun), *E. coli* bakteriyalari (klonlash va genetik manipulyatsiyalar uchun), steril shisha idishlar, petri idishlari, qopqoq va pipetkalar, plazmid o'zgartirish reaksiyasi uchun reaktivlar (polimeraza zanjir reaksiyasi (PCR) reagentlari).

Nazariy qism

Plazmidlar — bu bakteriyalar, archaealar yoki boshqa mikroorganizmlarda mavjud bo'lgan, doiraviy shaklda bo'lgan DNK molekulalaridir. Plazmidlar bakteriya hujayrasida genomdan alohida

tarzda mavjud bo'lib, ular ko'pincha genetik o'zgarishlarga qarshi o'zini himoya qilish, antibiotiklarga chidamlilikni ko'paytirish yoki boshqa foydali xususiyatlarni ta'minlashda ishtirok etadi.

Plazmidlarning asosiy turlariga quyidagilar kiradi:

1. **Konjugatsiya plazmidlari:** Bakteriyalar orasida genetik materialni uzatish uchun mas'uldir.

2. **Virulentlik plazmidlari:** Patogen bakteriyalarni hosil qilishga yordam beradi.

3. **Antibiotikga chidamlilik plazmidlari:** Bakteriyalarda antibiotiklarga chidamlilikni rivojlantirishga yordam beradi.

Plazmidlarning o'lchami odatda 1-100 kbp (kilobaza) oralig'ida bo'ladi va ular ko'plab turli xususiyatlarga ega bo'ladi, masalan, antibiotiklarga chidamlilik yoki ma'lum metabolizm yo'llarini qo'llab-quvvatlash.

Plazmidlar bilan ishlash jarayoni

Plazmidlarni olish: Plazmidlarni *E. coli* bakteriyalaridan ajratib olish uchun, bakteriyalarni inkubatsiya qilamiz va DNKni ekstraksiya qilish uchun kimyoviy yoki fermentativ usullarni qo'llaymiz. Odatda, alkol yoki fenol-chloroform ekstraksiyasi yordamida plazmidlarni ajratib olish mumkin.

Plazmidni o'zgartirish (Rekombinant plazmidlar): Restriktaza fermenti yordamida plazmidni kesib, unga kerakli genni qo'shish mumkin. Ligaza yordamida yangi genni plazmidga qo'shamiz. Ushbu rekombinant plazmidni *E. coli* yoki boshqa hujayralarga kirgizish uchun transformatsiya usulidan foydalanamiz.

Plazmidni hosil qilish: Transformatsiya usulida plazmidni *E. coli* bakteriyalariga kiritamiz, so'ngra bu bakteriyalarni inkubatsiya qilib, plazmidni ko'paytiramiz.

Ko'paytirilgan plazmidlarni ajratib olish va keyingi ishlov berish uchun centrifugatsiya va elektroforez kabi usullardan foydalanamiz.

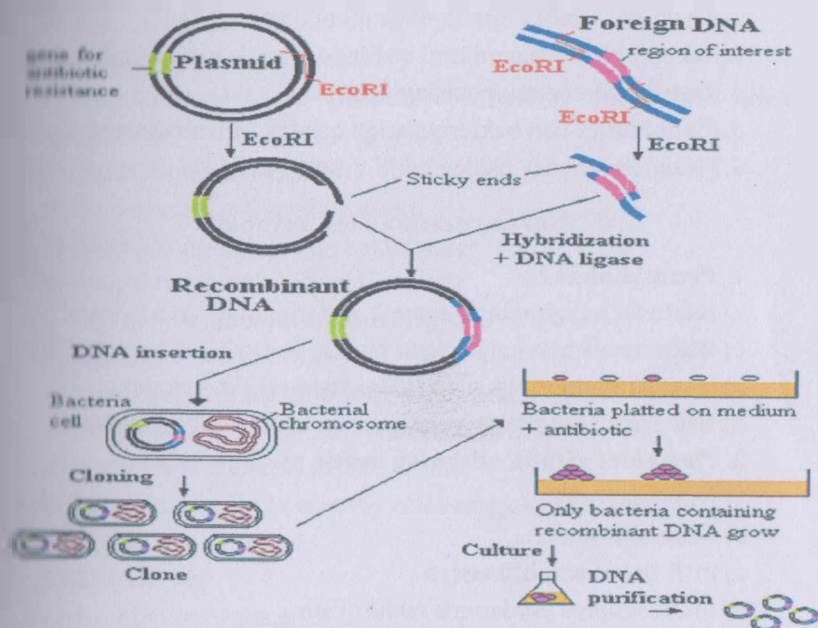
Ishni bajarish tartibi

1. **Plazmidni ajratib olish uchun *E. coli* bakteriyalarini o'sitish:** *E. coli* bakteriyalarini inkubatsiya qilish uchun Petri idishlaridan foydalaniladi. Bakteriyalarni to'plab va bakterial kultura 37°C da

reaktsiya qilishni boshlanadi. Bakteriyalarni sentrifuga orqali ajratib, kulturadan olinadigan DNKni olish uchun to'plash.

2. **Plazmidni rekombinantlash (Klonlash), plazmidni kesish:** Restriktaza fermentlar yordamida kerakli genlarni ajrating va plazmidga klonladigan genni tayyorlang. Plazmidni va genni kesish uchun masalan, EcoRI, BamHI yoki HindIII fermentlaridan foydalaning.

3. **Ligatsiya:** Kesilgan plazmid va genni ligaza yordamida birlashtiring. Reaksiya sharoitlarini optimal tarzda sozlang (pH, harorat).



15.1-rasm

4. **Transformatsiya:** Rekombinant plazmidni *E. coli* bakteriyalariga kiritish uchun transformatsiya usulidan foydalaning. *E. coli* hujayralarini shoka qo'yish yoki elektroporatsiya yordamida genetik materialni kiritib, inkubatsiya qilish.

5. Plazmidni ajratish: Bakteriyalarni sentrifuga orqali ajratib oling va plazmidni qayta ajrating. Elektroforez yordamida plazmidning o'lchamini tekshirib chiqing.

6. Rekombinant plazmidni sinash: Rekombinant plazmidni PCR yordamida tekshirib ko'ring. Agar kerakli gen amplifikatsiyalangan bo'lsa, plazmid muvaffaqiyatli modifikatsiya qilingan deb hisoblanadi.

Nazorat uchun savollar

1. Plazmidlarning qanday turlari mavjud?
2. Plazmidni qanday ajratib olish mumkin?
3. Rekombinant plazmidlarni qanday tayyorlash mumkin?
4. Restriksion enzimlar qanday ishlaydi?
5. Plazmidni E. coli bakteriyalariga qanday kiritish mumkin?
6. Plazmidni qanday usulda tahlil qilish mumkin?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Plazmid nima?

- a) Bakterial hujayraning genomik materialining katta qismi
- b) Bakteriyada mavjud bo'lgan kichik, doiraviy DNK molekulasi
- c) Viruslarning genetik materialini tashuvchi molekula
- d) Bakteriyalarni infektsiyalash uchun ishlatiladigan antibiotik

2. Plazmidni ajratib olishning asosiy usuli nima?

- a) Xromatografiya
- b) Gel elektroforezi
- c) PCR orqali amplifikatsiya
- d) Mikroskopiya yordamida tahlil qilish

3. Rekombinant plazmidlarni qanday tayyorlash mumkin?

- a) Plazmidni kesib, yangi genni ligaza yordamida qo'shish
- b) Plazmidni avtomatik tarzda ko'paytirish
- c) Plazmidni bakteriya hujayrasiga o'tkazish
- d) Plazmidni ko'paytirish uchun fermentlardan foydalanish

4. Restriksion enzimlar nima uchun ishlatiladi?

- a) Bakteriyalarni o'ldirish uchun
- b) Plazmidlar va genlarni kesish uchun
- c) Hujayra devorini buzish uchun
- d) Hujayra ichidagi metabolizmni boshqarish uchun

5. E. coli bakteriyalariga transformatsiya jarayonida qanday usul qo'llaniladi?

- a) Elektroporatsiya
- b) Ikkilamchi inkubatsiya
- c) Mikroskopik tahlil
- d) Agarose-gel elektroforezi

6. Plazmidlarni tahlil qilishda elektroforez yordamida nima aniqlanadi?

- a) Plazmidning qon tarkibi
- b) Plazmidning o'lchami va shakli
- c) Plazmidning tarkibidagi bakteriyalar
- d) Plazmidning faollik darajasi

7. Ligaza nima uchun ishlatiladi?

- a) Plazmidni kesish uchun
- b) Yangi genlarni plazmidga qo'shish uchun
- c) DNAning replikatsiyasini boshqarish uchun
- d) Plazmidni inkubatsiya qilish uchun

8. Plazmidlar odatda qanday o'lchamga ega bo'ladi?

- a) 10-100 kbp (kilobaza)
- b) 200-500 kbp
- c) 1-2 Mbp (megabaza)
- d) 500-1000 kbp

9. Plazmidlarni E. coli bakteriyalariga kiritishda qanday muammo yuzaga kelishi mumkin?

- a) Plazmidning bakteriologik faolligi yo'qoladi
- b) E. coli hujayralarining DNKnı qabul qilmasligi
- c) Plazmidning to'g'ri ishlamasligi
- d) Bakteriyalarda antibiotiklarga qarshilik hosil bo'lmaydi

10. Plazmidni olish uchun ishlatiladigan kimyoviy usullardan biri nima?

- a) Faqat mikrofiltratsiya
- b) Fenol-chloroform ekstraksiyasi
- c) Mikroelektroforez
- d) Kimyoviy transmutatsiya

16-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Biotexnologik mahsulotlar sifat nazorati an'aliyoti

Mashg'ulot maqsadi: Ushbu amaliy mashg'ulotda talabalar biotexnologik mahsulotlarning sifat nazorati bo'yicha asosiy texnikalar, metodlar va apparatlar bilan tanishadilar. Sifat nazorati yordamida mahsulotlarning tavsiflovchi xususiyatlari (faollik, sterillik, apirogenlik, endotoksinlar, mikrobiologik tozalik) aniqlanadi.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Biotexnologik mahsulotlar, ayniqsa, farmatsevtika sanoatida ishlatiladigan preparatlar uchun sifat nazorati eng muhim bosqichlardan biridir. To'g'ri o'tkazilgan sifat nazorati mahsulotning muvaffaqiyatli bo'lishini ta'minlab, iste'molchilarga zararli va samarali dorilarni taqdim etadi.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar: Spektrofotometr (yuvish, o'lchovlar va kimyoviy tahlillarni amalga oshirish uchun), sentrifuga (kimyoviy tahlil qilishda va kontaminatsiyaga qarshi), HPLC (Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi) (biotexnologik mahsulotlarni tahlil qilish uchun), kollapsometriya va elektroporatsiya tizimi (biotexnologik mahsulotlarning biofaolligini tekshirish), avtoklav (sterillikni ta'minlash uchun), pH-metr (eritmaning kislotalik va alkalilik darajasini o'lchash)

Nazariy qism

Biotexnologik mahsulotlar — bu biotexnologik jarayonlar orqali ishlab chiqarilgan va tibbiyotda yoki boshqa sohalarda qo'llaniladigan mahsulotlardir. Ular odatda mikrobyalardan, o'simliklardan yoki hayvonlardan olingan biokomponentlar asosida ishlab chiqiladi. Bunga genetik modifikatsiyalangan mikroorganizmlar yoki o'simliklar, antitela preparatlari, vaksinalar, rekombinant oqsillar kiradi.

Biotexnologik mahsulotlar sifatini nazorat qilishning asosiy yo'nalishlari:

✓ **Mikrobiologik sifat nazorati** – mahsulotlar steril bo'lishi, patogen mikroorganizmlar mavjud bo'lmashligi, va umumiy mikrobial yukni aniqlash.

✓ **Kimyoviy sifat nazorati** – mahsulot tarkibi, faollik darajasi, saqlash sharoitlari va fizik-kimyoviy xususiyatlarni tahlil qilish.

✓ **Fizikaviy sifat nazorati** – mahsulotning fizikaviy xususiyatlarini (pH, viscositet, osmosiyali bosim va h.k.) o'lchash.

✓ **Biologik faoliyatni aniqlash** – mahsulotning biologik faoliyatini va faolligini tekshirish, masalan, rekombinant oqsillar va vaksinalarning samaradorligi.

✓ **Toksikologik sifat nazorati** – mahsulotning toksikligi va zararli ta'sirlarini aniqlash.

Sifat nazoratining usullari

✓ **Mikrobiologik usullar:** Agar media yordamida mikroorganizmlarni o'sishiga ta'sir etuvchi usullar qo'llaniladi. Mikrobial sinovlar mahsulotdagi patogen organizmlarning mavjudligini tekshiradi.

✓ **Kimyoviy usullar:** Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) orqali mahsulotning tarkibini aniqlash. Bu usulda, preparatdagi barcha komponentlar alohida ajratiladi va miqdori aniqlanadi.

✓ **Biologik testlar:** Biotexnologik mahsulotlarning biologik faolligini tekshirish uchun turli testlar, masalan, hayvonlar (inchiqish, teri allergiyasi) yordamida amalga oshiriladi.

✓ **Spektrofotometrik analiz:** Biotexnologik mahsulotlarning konsentratsiyasini aniqlashda, masalan, proteinlar yoki nuklein kislotalarni o'lchashda spektrofotometrda foydalaniladi.

Ishni bajarish tartibi

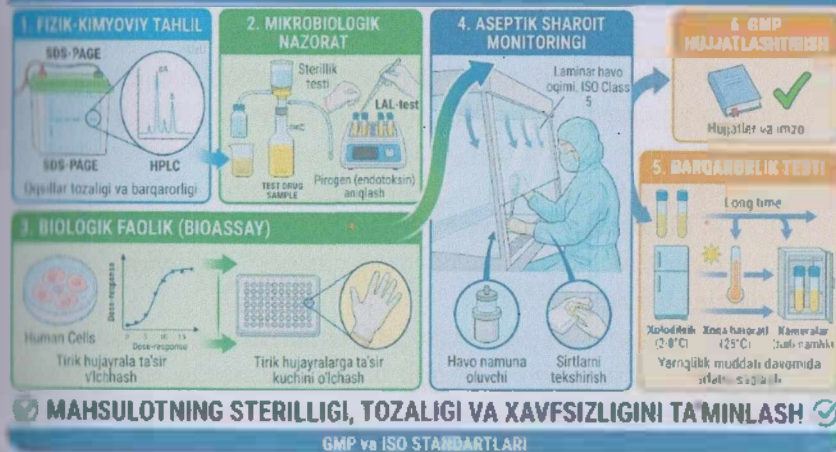
1. Namuna olish

Sifat nazorati uchun mahsulotdan namunalar olish jarayoni toza va steril sharoitda amalga oshiriladi. Namuna olish paytida quyidagilarga e'tibor beriladi:

- Mahsulotni ishlab chiqarish partiyasidan tasodifiy namuna olinadi.
- Namuna hajmi standartlarga muvofiq tanlanadi.

- Namuna steril idishlarga solinib, transport va saqlash sharoitlariga qaratib olinadi.
- Namuna olishda sterilizatsiyalangan asbob-uskunalar ishlatiladi va ularni sterilizatsiya qilish zarur.

BIOTEXNOLOGIK MAHSULOTLAR SIFAT NAZORATI AMALIYOTI



16.1-rasm

2. Makroskopik va mikroskopik tekshiruv. Namuna olishdan keyin mahsulot ko'z bilan va mikroskop ostida tekshiriladi:

Makroskopik tekshiruv: Mahsulot rang, hid, shaffoflik va konsistensiyasi bo'yicha baholanadi. Masalan, vaksinalar yoki fermentlar ko'rinishi, rangi va tozaligi tekshiriladi.

Mikroskopik tekshiruv: Mikroskop yordamida mahsulotda har qanday kontaminantlar, yadrolar yoki shikastlangan hujayralar aniqlanadi.

Bu bosqichda aniqlangan nojo'ya holatlar keyingi tahlillar uchun muayyanlantirish bo'ladi.

3. Kimyoviy va fizik-kimyoviy tahlillar

Biotexnologik mahsulotlarning kimyoviy tarkibini aniqlash muhim bosqich hisoblanadi:

pH o'lchovi: Mahsulotning kislotali yoki ishqoriyligi pH-metr yordamida aniqlanadi va standartlarga mosligi tekshiriladi.

Oqsillar va fermentlar kontsentratsiyasi: Spektrofotometrda (masalan, 280 nm da) o'lchanadi yoki boshqa maxsus analizatorlar orqali hisoblanadi.

Zarrachalar hajmi va dispersiyasi: Ba'zi mahsulotlarda zarrachalar hajmi dinamik nur sochish yordamida tahlil qilinadi.

Quruq moddalar miqdori: Mahsulotning namlik miqdori va umumiy quruq moddalar foizi aniqlanadi. Kimyoviy tahlillar mahsulotning sifatini, barqarorligini va saqlash muddatini baholashda muhim rol o'ynaydi.

4. Biologik faoliyat va bioassaylar

Biotexnologik mahsulotlarning asosiy ko'rsatkichlaridan biri ularning biologik faolligidir:

Faollik testi: Masalan, fermentlar uchun substratga ta'siri, vaktsinalar uchun immunogenlik bahosi, antitanalar uchun bog'lanish faolligi aniqlanadi.

In vitro bioassaylar: Mahsulotning ma'lum biologik jarayonlarga ta'siri laboratoriya sharoitida tekshiriladi.

Hayvonlarda sinovlar: Zarur hollarda mahsulotning xavfsizligi va samaradorligi hayvon modellarida sinovdan o'tkaziladi. Bu testlar mahsulotning klinik samaradorligini ta'minlash uchun muhim.

5. Sterillik va apirogenlik tekshiruvi

Biotexnologik mahsulotlarning sterilligi va apirogenligi sifat nazoratining muhim qismidir:

Sterillik sinovi: Namuna steril muhitga inokulyatsiya qilinadi va mikroorganizmlar o'sishi tekshiriladi.

Apirogenlik testi: Limfa cho'chqasi sinovi yoki LAL testi orqali pirogen moddalar aniqlanadi. Bu tahlillar xavfsiz preparatni ta'minlaydi.

6. Yaroqlilik muddati va barqarorlikni baholash

•Mahsulotning saqlash sharoitida kimyoviy va biologik xossalaring saqlanishi baholanadi:

•Mahsulotni turli harorat va yorug'lik sharoitida saqlab, vaqt o'tishi bilan o'zgarishlarni aniqlash.

• Yaroqlilik muddati davomida mahsulotning faolligi, sterilligi va aptogentligi tekshiriladi. Barqarorlik tahlillari sifat kafolatini ta'minlash uchun muhimdir.

Nazorat uchun savollar

1. Biotexnologik mahsulotlarning sifat nazorati qanday usullardan foydalanadi?
2. Mikrobiologik sifatni qanday tekshirishingiz mumkin?
3. Kimyoviy sifat nazorati uchun qanday usullar qo'llaniladi?
4. Biologik faollikni qanday aniqlash mumkin?
5. Plazmidlar va bakteriyalardan olingan mahsulotlar uchun qanday mikrobiologik testlar o'tkaziladi?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Biotexnologik mahsulotlarning sifat nazoratida qanday asosiy yo'nalishlar mavjud?

- a) Mikrobiologik, kimyoviy, fizikaviy, biologik faollik, va toksikologik nazorat
- b) Faqat kimyoviy nazorat
- c) Faqat biologik faollikni aniqlash
- d) Mikrobiologik va biologik nazoratning kombinatsiyasi

2. Mahsulotning steril ekanligini qanday tekshirish mumkin?

- a) Spektrofotometrik tahlil orqali
- b) Agar media yordamida mikrobiologik sinovlar o'tkazish
- c) PCR orqali amplifikatsiya qilish
- d) Viskozitetni o'lchash

3. Kimyoviy sifat nazoratida qanday metoddan foydalanish mumkin?

- a) Mikroskopik tahlil
- b) Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC)
- c) Endotoksinlar testi
- d) Koloniyalarni inkubatsiya qilish

4. Biotexnologik mahsulotlarning biologik faolligini qanday tekshirish mumkin?

- a) Agar media yordamida mikrobiologik sinovlar o'tkazish
- b) In vitro va in vivo testlar orqali
- c) Toksikologik profiling
- d) HPLC orqali tahlil qilish

5. Endotoksinlar testini o'tkazishning maqsadi nima?

- a) Mahsulotning toksik ta'sirini tekshirish
- b) Mahsulotda bakterial kontaminatsiyaning borligini aniqlash
- c) Mahsulotda endotoksinlar mavjudligini aniqlash
- d) Mahsulotning biologik faolligini aniqlash

6. Biotexnologik mahsulotlarni toksikologik xavfsizlik testi qanday amalga oshiriladi?

- a) In vivo (hayvonlar) va in vitro (laboratoriya sharoitida) testlar orqali
- b) Spektrofotometrik analiz yordamida
- c) PCR yordamida
- d) Agar agar media orqali

7. HPLC tizimi biotexnologik mahsulotlar sifat nazoratida qanday rol o'ynaydi?

- a) Faollikni o'lchash uchun ishlatiladi
- b) Mahsulot tarkibini va kimyoviy komponentlarini ajratish uchun ishlatiladi
- c) Bakterial kontaminatsiyani aniqlash uchun ishlatiladi
- d) Mahsulotning viskozitasi va pH darajasini tekshirish uchun ishlatiladi

8. Mikrobiologik sifatni tekshirishda Agar media qanday ishlatiladi?

- a) Mahsulotning biologik faolligini tekshirish uchun
- b) Mahsulotda mikroorganizmlar boriigini aniqlash uchun
- c) Mahsulotning pH darajasini o'lchash uchun
- d) Mahsulotning kimyoviy tarkibini tahlil qilish uchun

9. Biotexnologik mahsulotlarda kimyoviy va fizikaviy sifat nazorati qanday amalga oshiriladi?

- a) HPLC va agarose-gel elektroforezi orqali

b) Spektrofotometriya va viskozitani o'lchash yordamida

c) Mikroskopiya va mikrobiologik tahlil yordamida

d) Endotoksinlar testlari orqali

10. Toksikologik profil tekshiruvi mahsulotning qanday xususiyatini aniqlashga yordam beradi?

a) Mahsulotning toksik ta'sirini

b) Mahsulotning pH darajasini

c) Mahsulotda mavjud bo'lgan kimyoviy tarkibni

d) Mahsulotning fizikaviy xususiyatlarini

17-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Immunoferment analiz (ELISA) usulini bajarish

Mashg'ulot maqsadi: ELISA usuli yordamida hayvonlar kasalliklarini aniqlashda immunoferment tahlil texnologiyasidan foydalanish bo'yicha talabalarda nazariy bilim va amaliy ko'nikmalarni shakllantirish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Immunoferment analiz – veterinariya diagnostikasida keng qo'llaniladigan zamonaviy usul bo'lib, hayvonlarda turli yuqumli va yuqumli bo'lmagan kasalliklarni aniqlash, vaksina samaradorligini baholash va serologik monitoring uchun muhim ahamiyatga ega.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar

1. ELISA plitalari (96 ta quduqchali)
2. Mikropipetka va ularning uchliklari
3. Inkubator (37 °C)
4. ELISA yuvish moslamasi yoki qo'lda yuvish vositasi
5. Fotometr (ELISA reader)
6. Reaktivlar (antigen, antikor, kon'yugat, substrat, stop eritma)
7. Distillangan suv, buffer eritmalari (PBS, TBS)
8. Himoya vositalari (qo'lqop, xalat, niqob)

Nazariy qism:

Immunoferment analiz (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA) immunoagnostika usullarining eng ishonchli va sezgir turlaridan biri hisoblanadi. Ushbu usulda antigen-antikor reaksiyasi ferment bilan belgilangan indikator orqali aniqlanadi. ELISA bir necha turlarga bo'linadi: to'g'ridan-to'g'ri, bilvosita, sandwich (sendvich) va kompetitiv usullar. Veterinariya tibbiyotida sandwich ELISA eng keng tarqalgan bo'lib, bunda antigen yoki antikor qattiq fazaga (polistirol plitaga) immobilizatsiya qilinadi.

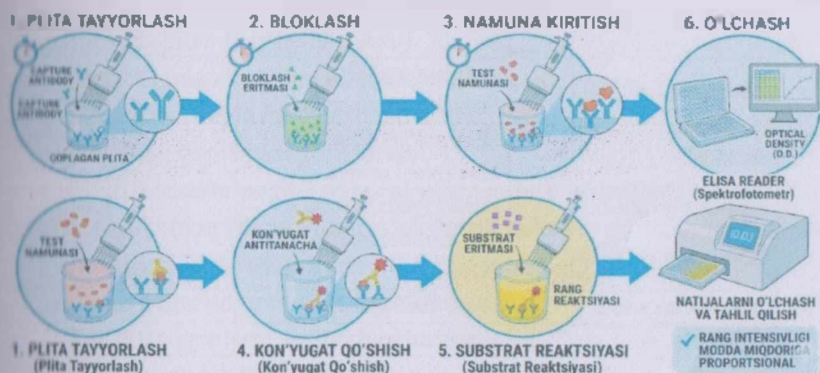
Usulning mohiyati shundan iboratki, aniqlanayotgan antigen yoki antikor ferment bilan bog'langan boshqa antikor orqali aniqlanadi. Ferment substrat bilan reaksiyaga kirishib, rangli mahsulot hosil qiladi. Ushbu rang intensivligi fotometrik o'lchov yordamida aniqlanadi va bu o'lchov antigen yoki antikor konsentratsiyasiga proporsional bo'ladi. ELISA usuli veterinariya sohasida hayvonlarda parvovirus, brutsellez, leptospiroz, qush grippi kabi kasalliklarni aniqlashda keng qo'llaniladi. Ushbu usul hayvon mahsulotlarida (sut, tuxum, go'sht) qoldiq antibiotiklar yoki toksinlarni aniqlashda ham ishlatiladi. Talabalarning ushbu usulni o'zlashtirishi diagnostika laboratoriyalarida ishlash malakasini oshiradi, shuningdek, natijalar sifatini nazorat qilishda amaliy foyda beradi. ELISA usulining afzalliklari: yuqori sezgirlik, bir vaqtning o'zida ko'p namunalarni tekshirish imkoniyati, tezkor natijalar, xavfsizligi va nisbatan arzonligi. Cheklavlar: sifatli reaktivlar bo'lishi, tajribali laboratoriya sharoitini talab qilishi va noto'g'ri ishlov berishda soxta natijalar chiqishi mumkin.

Ishni bajarish tartibi

Plita tayyorlash → 2.Bloklash → 3.Namuna kiritish → 4.Kon'yugat qo'shish → 5.Substrat reaksiyasi → 6.O'lchash.

IMMUNOFERMENT ANALIZ (ELISA) USULINI BAJARISH KETMA-KETLIGI

SANDVICH ELISA USULI MISOLIDA



• **Namuna tayyorlash:** Hayvon qon zardobi, plazma yoki boshqa biologik suyuqlikdan namunalar olinadi. Namuna toza va kontaminatsiyasiz bo'lishi zarur.

➤ **Plitani qoplash:** ELISA plitasining quduqchalari aniqlanadigan antigen yoki antikor bilan qoplanadi va ma'lum muddat inkubatsiya qilinadi. Keyin yuvish orqali ortiqcha komponentlar olib tashlanadi.

➤ **Bloklash:** Quduqchalarda bo'sh joylarni to'ldirish uchun bloklovchi eritma (masalan, BSA) qo'shiladi. Bu nonspecifik bog'lanishni kamaytiradi.

➤ **Namuna qo'shish:** Tayyorlangan namuna (antigen yoki antikor) quduqchalarga qo'shiladi va ma'lum muddat inkubatsiya qilinadi. Bog'lanmagan qismi yuviladi.

➤ **Konyugat qo'shish:** Ferment bilan belgilangan antikor yoki antigen qo'shiladi. Bu komponent aniqlanayotgan molekulaga bog'lanadi. Inkubatsiya o'tkaziladi, so'ng yuviladi.

➤ **Substrat qo'shish:** Ferment substrat bilan reaksiyaga kirishadi va rangli mahsulot hosil qiladi. Misol uchun, HRP (xren peroksidaza) uchun TMB substrat ishlatiladi.

➤ **Reaksiyani to'xtatish:** Stop eritmasi qo'shib, rang barqarorlashadi.

➤ **Natijani o'lchash:** Fotometrda (450 nm) absorbsiya qiymati o'lchanadi. Natijalar standart egri chiziq bilan solishtiriladi.

ELISA jarayon bosqichlari

Bosqich	Amalga oshiriladigan ish	Vaqt
Plitani qoplash	Antigen/antikorni quduqchalarga qo'shish	1 soat
Bloklash	BSA yoki boshqa bloklovchi eritma	30 daq
Namuna qo'shish	Zardob yoki plazma	1 soat
Kon'yugat qo'shish	Ferment belgilangan antikor	1 soat
Substrat qo'shish	Rang hosil qilish	10-20 daq
O'lchash	Fotometr yordamida	5 daq

Amaliy mashg'ulot davomida talabalarga xavfsizlik qoidalari eslatiladi: himoya kiyimi, qo'lqop, niqob, toza stol yuzasi, chiqindilarni to'g'ri utilizatsiya qilish.

Nazorat savollari

1. ELISA usulining asosiy prinsipi nimaga asoslangan?
2. ELISA usuli nechta asosiy turga bo'linadi va ular qanday farq qiladi?
3. Veterinariya sohasida ELISA qaysi kasalliklarni aniqlashda qo'llaniladi?
4. ELISA usulining afzalliklari va cheklovlarini izohlang.
5. ELISA jarayonida bloklash bosqichi nima uchun zarur?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. ELISA usulida antikorlar qanday rol o'ynaydi?
 - a) Ular substratni anglaydi
 - b) Ular antigenlarni aniqlaydi
 - c) Ular fermentlarni o'zgartiradi
 - d) Ular rang o'zgarishini oldini oladi
2. ELISA usulida substratning roli nima?
 - a) Rang o'zgarishini ko'rsatish
 - b) Antigenni yopishtirish
 - c) Plataning yuzasini bloklash
 - d) Toksik moddalarni aniqlash
3. ELISA usulida antigen qanday aniqlanadi?
 - a) Substrat bilan bog'lanish orqali
 - b) Ferment bilan bog'langan antikorlar orqali
 - c) Yuqori haroratda inkubatsiya orqali
 - d) Plataning qoplamasi yordamida
4. ELISA testida pozitif nazorat nima uchun ishlatiladi?
 - a) Mahsulotning ishonchligini tekshirish uchun
 - b) Antigenni bloklash uchun
 - c) Rang o'zgarishini minimallashtirish uchun
 - d) Yangi antigenlarni aniqlash uchun
5. "Sandwich ELISA"da qanday usul ishlatiladi?
 - a) Antikorlar orasida raqobat yuzaga keladi
 - b) Antigening ikki qatlamli bog'lanishi amalga oshiriladi

- c) Faollikni o'lchash usuli
 - d) Substrat bilan bog'lanish uchun faqat bitta antikor ishlatiladi
- 6. ELISA testida rang o'zgarishi sodir bo'lsa, bu nima deganidir?**
- a) Antigen va antikorlar orasida bog'lanish mavjud
 - b) Substrat oksidlanmagan
 - c) Toksik modda topilgan
 - d) Plataning qoplamasi buzilgan
- 7. Agar ELISA testida rang o'zgarishi juda kuchli bo'lsa, nima qilish kerak?**
- a) Yana bir marta testni o'tkazish
 - b) Substratni kamaytirish yoki inkubatsiya vaqtini qisqartirish
 - c) Nazoratni o'zgartirish
 - d) Plataning joyini o'zgartirish
- 8. ELISA testining "indirect" usulida qanday metod ishlatiladi?**
- a) Birinchi antikor va ferment bilan bog'langan antikor ishlatiladi
 - b) Ikki antikorning to'g'ridan-to'g'ri bog'lanishi
 - c) Faollikni o'lchash usuli qo'llaniladi
 - d) Substrat orqali antigen aniqlanadi
- 9. ELISA usulida substratning rangini o'lchash uchun qanday asbobdan foydalaniladi?**
- a) Mikroskop
 - b) Spektrofotometr
 - c) pH metr
 - d) Termometr

10. ELISA usulida test natijalarini qanday tahlil qilasiz?

- a) Rangning o'zgarishini ko'rib chiqing va uni mikroskopda kuzating
- b) Rang o'zgarishini spektrofotometr yordamida o'lchab, standard epi chiziqqa qarab solishtiring
- c) Substrat miqdorini o'lchash orqali
- d) Plataning haroratini o'lchab, tahlil qiling

18-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Hujayra kulturalarini yetishtirish va saqlash texnologiyasi

Mashg'ulot maqsadi: Talabalarda hujayra kulturasini laboratoriya sharoitida yetishtirish, o'stirish va uzoq muddatli saqlash bo'yicha nazariy bilim hamda amaliy ko'nikmalarni shakllantirish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Hujayra kulturasini biotexnologiya, farmatsevtika va veterinariya sohalarida asosiy tadqiqot vositasidir. Veterinariyada hayvonlar kasalliklarini o'rganish, yangi dori vositalarini yaratish, probiotiklar yoki hujayra asosida ishlangan preparatlarni sinashda hujayra kulturasini muhim ahamiyatga ega.

Zarur jihozlar va asbob-uskuna

1. Laminar oqim shkafi (steril ish muhiti uchun)
2. Inkubator (37 °C, CO₂ bilan ta'minlangan)
3. Mikroskop (invert va oddiy)
4. Sentifuga
5. Suv hammomi
6. Steril pipetkalar, pipetka uchlari, probirkalar
7. Kulturali idishlar (flakonlar, Petri kosachalari, multiwell plitalar)
8. Kulturali muhitlar (DMEM, RPMI-1640 va boshqalar)
9. Antiseptiklar, dezinfektantlar, antibiotiklar
10. Muzlatgich va suyuq azotli saqlash tizimi (kriokonservatsiya uchun)

Nazariy qism

Hujayra kulturasini – bu hayvon yoki odam hujayralarini in vitro sharoitida, ya'ni tashqi muhitda maxsus sharoitlarda o'stirish jarayonidir. Bu texnologiya biologiya, tibbiyot, veterinariya va farmatsevtikada keng qo'llaniladi. Hujayralarni o'stirish uchun maxsus ozuqa muhitlari, optimal harorat, pH, gaz tarkibi (odatda 5% CO₂) va steril sharoit zarur.

Hujayralar ikkiga bo'linadi: birlamchi hujayralar (tashqi to'qimalardan ajratilgan) va immortalizatsiya qilingan hujayralar (toksiz bo'linish xususiyatiga ega). Birlamchi hujayralar fiziologik xususiyatlarga yaqin, ammo qisqa muddatli; immortalizatsiya qilingan hujayralar uzoq muddat ishlatilishi mumkin.

Hujayra kulturasining asosiy vazifalari: viruslarni ko'paytirish, vaktsinalar ishlab chiqish, hujayralararo reaksiyalarni o'rganish, dori vositalarining toksikligini va samaradorligini sinash, genetik manipulyatsiyalar. Veterinariya farmatsevtikasida esa hayvon kasalliklarini diagnostika qilish va davolash uchun yangi preparatlar yaratishda, immunobiologik vositalarni sinashda katta ahamiyatga ega. Steril hujayra kulturasida eng muhim talabdir.

Har qanday kontaminatsiya (bakteriya, zamburug', virus) tajribani buzadi. Shuning uchun laminar shkaf, filtrlangan muhitlar, steril asboblardan foydalaniladi. Hujayralarni saqlash uchun kriokonservatsiya – suyuq azotda (-196°C) yoki ultratovushli muzlatgichlarda (-80°C) uzoq muddatli muzlatish texnologiyasi qo'llaniladi. Saqlangan hujayralarni qayta ishlatishda to'g'ri eritish va parvarish qilish muhimdir.

Ishni bajarish tartibi

Hujayra qabul qilish → 2.Eritish → 3.Ekish → 4.Inkubatsiya → 5.Parvarish va pasaj → 6.Saqlash kriobankda.

1. Ish joyini tayyorlash: Laminar shkaf dezinfeksiya qilinadi, barcha asbob-uskunalar va muhitlar sterillikda tayyorlanadi. Qo'lqop, salol, niqob kiyiladi.

2. Hujayra qabul qilish: Birlamchi yoki liniyal hujayralar kriobankdan olinadi. Agar kriokulturadan bo'lsa, tezkor eritish suv hammomida (37°C) amalga oshiriladi.

3. Madaniyatni ekish: Eritilgan hujayralar sentrifugadan o'tkazilib, eski krioprotektant (DMSO) olib tashlanadi, yangi muhitga suspenziya qilinadi va kulturali idishga ekiladi. Inkubatorga qo'yiladi.

4. Parvarish qilish: Muhit har kuni yoki zarur bo'lganda yangilanadi. Hujayralar mikroskop ostida kuzatilib, kontaminatsiya yo'qligi tekshiriladi. Hujayralar zichlashganda, tripsin yoki boshqa ferment yordamida bo'lish (passaj qilish) amalga oshiriladi.

5. Saqlash (kriokonservatsiya): Uzoq muddatli saqlash uchun hujayralar DMSO (10%) va serum bilan aralashtirilib kriotubikaga solinadi. Seansli sovutish ($1^{\circ}\text{C}/\text{min}$) orqali -80°C ga tushiriladi, so'ng suyuq azotga o'tkaziladi.

6. Kontaminatsiyani oldini olish: Har bir ish bosqichida steril texnika qoidalariga amal qilish, ishlov berilgan chiqindilarni dezinfeksiya qilish zarur.

HUJAYRA KULTURALARINI YETISHTIRISH VA SAQLASH TEKNOLOGIYASI



18.1-rasm

Hujayra kulturasini yetishtirish uchun asosiy sharoitlar

Ko'rsatkich	Optimal qiymat
Harorat	37°C
Gaz muhit	5% CO ₂
pH	7,2-7,4
Namlilik	95%
Muhit	DMEM + 10% serum + antibiotik

18.2-rasm

Nazorat uchun savollar

1. Hujayra kulturasini yetishtirish uchun qanday asosiy sharoitlar talab qilinadi?

2. Bulamchi va immortalizatsiya qilingan hujayralarning farqi nimada?

3. Veterinariya farmatsevtikasida hujayra kulturasi qaysi muqobilarda qo'llaniladi?

4. Kriokonservatsiyaning mohiyati va bosqichlarini izohlang.

5. Kontaminatsiyani oldini olishda qanday choralar ko'riladi.

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Hujayralarni uzoq muddatli saqlashda qanday moddadan foydalaniladi?

- a) Etanol
- b) Trypsin
- c) DMSO
- d) NaCl

2. CO₂ inkubatorida odatda qancha CO₂ saqlanadi?

- a) 10%
- b) 2%
- c) 5%
- d) 1%

3. Hujayra madaniyati uchun eng ko'p qo'llaniladigan oziqlantiruvchi muhit:

- a) PBS
- b) RPMI-1640
- c) NaOH
- d) D-glukoza

4. Hujayralarni plakatdan ajratish uchun ishlatiladigan ferment:

- a) Pepsin
- b) Lipaza
- c) Trypsin
- d) Proteaza

5. Kriokonservatsiyada saqlash harorati:

- a) +4°C
- b) -20°C

c) -80°C

d) -196°C

6. Hujayra madaniyatida kontaminatsiyadan saqlanish uchun nima kerak?

a) CO_2 ni ko'paytirish

b) Sterillikni saqlash

c) Barcha hujayralarni qovurish

d) Muzlatmaslik

7. DMEM deganda nima tushuniladi?

a) Dori moddalari uchun muhit

b) Dulzarli muhit

c) Dulbecco's Modified Eagle Medium

d) Daryolarni o'zgartirish muhit

8. Hujayra madaniyati uchun eng muhim omil nima?

a) Harorat

b) pH darajasi

c) Oziqlantiruvchi muhit va sharoitlar

d) Hujayra turi

9. Hujayralar muzlatilayotganda qanday xavf mavjud?

a) Hujayralar o'sib ketadi

b) Hujayralar qattiq bosim ostida bo'ladi

c) Hujayralar buzilib ketishi mumkin

d) Hujayralar pH darajasi o'zgaradi

10. Hujayra madaniyatlarini qanday saqlash usuli ularning genetik xususiyatlarini saqlash uchun muhimdir?

a) Xona haroratida saqlash

b) Kriokonservatsiya

c) Oziqlantiruvchi muhitda saqlash

d) Quruq joyda saqlash

19-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Biotexnologik jarayonlarda PH va haroratning ta'sirini o'rganish

Mashg'ulot maqsadi: Biotexnologik jarayonlarda pH va harorat muhitining muhim omillari hisoblanadi. Ushbu mashg'ulotning maqsadi talabalarni pH va haroratning mikroorganizmlar va hujayra kulturasi shartlari ta'sirini o'rganish, ularning o'sishini va metabolizmini qanday o'zgartirishi haqida bilim berishdan iborat.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Biotexnologiyada jarayonlarning muvaffaqiyatli amalga oshirilishi, asosan, reaksiya muhitining pH darajasi va haroratiga bog'liq. Hujayra va mikroorganizmlar har bir o'ziga xos optimal pH va haroratda samarali ishlashadi.

Zarur jihozlar va asbob-uskuna

1. pH metrlari yoki pH indikator
2. Termometr yoki infraqizil termometr
3. CO₂ inkubator
4. Mikroskop
5. Mikropipetkalar
6. Termostatli inkubator
7. Mikrobiologik steril idishlar
8. Hujayra kulturasi uchun oziqlantiruvchi muhit (DMEM, RPMI-1640 va boshqalar)
9. Mikroskop

Nazariy qism

pH ning ta'siri pH — bu erigan moddalar va suyuqliklarning kislotali yoki ishqoriyligini o'lchash. pH ning optimal darajasi mikroorganizmlar va hujayralar uchun muhimdir. Bu ko'rsatkich fermentativ faoliyat, hujayra o'sishi va metabolizm jarayonlariga ta'sir

qiladi. Hujayralarning o'sish sharoiti va fermentlarning faolligi pH darajasiga sezgir bo'lishi mumkin.

Kislotalik ($pH < 7$) va ishqoriylik ($pH > 7$) sharoitlarida fermentlar va hujayralar to'g'ri ishlamaydi, bu esa mahsulot ishlab chiqarishda sekinlashish yoki jarayonning butunlay to'xtashiga olib keladi.

Optimal pH darajasi har bir organizm va kultura uchun individual bo'lib, ko'pincha 6.5-7.5 oralig'ida bo'ladi. Masalan, zamburug'lar uchun pH 5.5-6.5 atrofida, bakteriyalar uchun esa 6.5-7.5 bo'lishi mumkin.

Haroratning ta'siri Harorat mikroorganizmlarning va hujayralarning metabolizmiga, o'sish sur'atiga va ferment faoliyatiga ta'sir qiladi. Haroratni o'zgartirish jarayonni optimallashtirishi yoki aksincha, pasaytirishi mumkin.

Optimal harorat: Bakteriyalar va zamburug'lar uchun odatda 25-37°C oralig'ida bo'ladi. Eukariotik hujayralar uchun esa 37°C optimal hisoblanadi.

Past harorat: Hujayralarning metabolizm va o'sishini sekinlashtiradi, bu esa natijada fermentatsiya jarayonining sustlashishiga olib keladi.

Yuqori harorat: Hujayralarning strukturasi va fermentlari denaturatsiyaga uchrashi mumkin, bu esa ularning faoliyatini to'xtatadi.

pH va haroratning biotexnologik jarayonlarga ta'siri

Fermentatsiya jarayonlari: pH va haroratning optimal darajalarida mikroorganizmlar va fermentlar maksimal faollikka ega bo'ladi. Fermentatsiya davomida pH va haroratni doimiy nazorat qilish zarur, chunki bu omillar natijaviy mahsulotning sifatiga ta'sir qiladi.

Hujayra kulturalari: Hujayra kulturalarini o'stirishda harorat va pHni optimal darajada saqlash o'sishning maksimal bo'lishini ta'minlaydi. Shuningdek, hujayralarning metabolizmi va genetik materialining ifodalanishi ham bu omillarga bog'liq.

Ishni bajarish tartibi

pH ning ta'sirini o'rganish

Oziqlantiruvchi muhitni tayyorlash: DMEM yoki RPMI-1640 muhitlarini tayyorlaniladi, pH darajasini 5, 7, va 9 ga sozlash, pH muhitlari yordamida pH darajasini o'lchash.

Mikroorganizmlar yoki hujayralarni tayyorlash: Hujayra kulturalarini yoki bakteriyalarni muhitga joylashtirish, Har bir pH darajasi uchun alohida guruhlarini tayyorlash, Hujayralarni inkubatsiyaga qo'yish (37°C).

Hujayralarning o'sishini kuzatish: 24-48 soat davomida hujayra o'sishini mikroskop yordamida kuzatish, O'sish tezligi va hujayra miqdori o'lchash.

Haroratning ta'sirini o'rganish

Oziqlantiruvchi muhitni tayyorlash: DMEM yoki RPMI-1640 muhitini tayyorlash, haroratni 25°C, 37°C va 45°C da sozlash.

Mikroorganizmlar yoki hujayralarni tayyorlash: Hujayra kulturalarini yoki bakteriyalarni tayyorlash va haroratlarda inkubatsiyaga qo'yish, haroratni doimiy nazorat qilish va hujayra kulturalarini tekshirish.

Hujayralarning o'sishini kuzatish: Har bir harorat sharoitida hujayra o'sishini kuzatish, harorat o'zgarishi bilan o'sish sur'atining qanday o'zgarishini aniqlash.

Natijalarni tahlil qilish: Har bir pH va harorat sharoitidagi o'sish tezligini taqqoslash, harorat va pH ning hujayra faoliyatiga, o'sishiga va metabolizmasiga ta'sirini tahlil qilish, yaxshi o'sish va yuqori faollikni ta'minlaydigan optimal sharoitlarni aniqlash.

Nazorat savollari

1. pH ning hujayra o'sishiga qanday ta'siri bor?
2. Optimal haroratni qanday aniqlash mumkin?
3. Haroratning yuqori va past darajalari hujayra faoliyatiga qanday ta'sir qiladi?

4. Fermentatsiya jarayonida pH va haroratni qanday boshqarish kerak?

5. Hujayra madaniyatlarida pH ni qanday sozlash mumkin?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. pH darajasi hujayra o'sishiga qanday ta'sir qiladi?

- a) O'zgartirish hujayra o'sishini tezlashtiradi
- b) Har bir hujayra turi uchun o'zining optimal pH darajasi mavjud
- c) pH darajasi faqat metabolizmga ta'sir qiladi
- d) pH darajasi faqat fermentlarga ta'sir qiladi

2. Hujayra o'sishining optimal harorati qanday bo'lishi kerak?

- a) 25°C
- b) 37°C
- c) 50°C
- d) 100°C

3. Agar harorat 45°C ga o'zgarsa, hujayra faoliyati qanday o'zgaradi?

- a) Hujayra faoliyati o'sadi
- b) Hujayra metabolizmi to'xtaydi
- c) Hujayra faoliyati sustlashadi
- d) Hujayralar ko'payishni boshlaydi

4. pH darajasi qanday ta'sir qiladi?

- a) Faqat bakteriyalarni o'sishini ta'sir qiladi
- b) Faqat fermentlar faolligiga ta'sir qiladi
- c) Hujayra o'sishini va ferment faolligini ta'sir qiladi
- d) Hujayra madaniyati o'sishiga hech qanday ta'sir qilmaydi

5. Fermentatsiya jarayonida pH va haroratni boshqarishning ahamiyati qanday?

- a) Ular faqat dori ishlab chiqarish uchun kerak
- b) Ular jarayonning samaradorligini oshiradi
- c) Ular bakteriyalarni ko'paytirish uchun kerak
- d) Ular faqat hujayralarni saqlash uchun zarur

6. pH 7 dan past bo'lsa, bu nima anglatadi?

- a) Muhit kislotalidir

b) Muhit ishqoridir

c) Muhit neytral

d) Bu pH darajasi hujayra uchun optimal

7. Agar pH 9 bo'lsa, bu qaysi sharoitga mos keladi?

a) Kislotalik sharoiti

b) Ishqoriy sharoit

c) Neytral sharoit

d) Hujayra o'sishi uchun optimal sharoit

8. Hujayra o'sishining sekinlashishiga olib keladigan harorat qaysi?

a) 37°C

b) 25°C

c) 45°C

d) 60°C

9. Hujayra kulturalarini saqlashda optimal pH darajasi qanday bo'ladi?

a) pH 3

b) pH 5

c) pH 7

d) pH 9

10. Haroratning 50°C ga o'tishi hujayra faoliyatiga qanday ta'sir qiladi?

a) Hujayralar tez o'sadi

b) Hujayra faoliyati to'xtaydi

c) Hujayralar o'zgaradi

d) Hujayra o'sishi uchun haroratni 50°C gacha ko'tarish kerak

20-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Fermentlar kinetikasini o'lchash va grafik talqini

Mashg'ulot maqsadi: Fermentlar (enzimlar) – tirik organizmlarda sodir bo'ladigan barcha biokimyoviy reaksiyalarni tezlashtiruvchi oqsil tabiatli katalizatorlardir. Bugungi kunda farmatsevtika, tibbiyot, oziq-ovqat sanoati, biotexnologiya va ekologiya sohalarida fermentlarning kinetikasini chuqur o'rganish katta ahamiyat kasb etadi.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Fermentlar kinetikasini o'rganish orqali Ferment-substrat o'zaro ta'sirini aniqlash, reaksiya tezligining pH, harorat va substrat konsentratsiyasiga bog'liqligini ko'rsatish, Michaelis–Menten tenglamasi va Lineweaver–Burk grafigi yordamida fermentlarning K_m va V_{max} qiymatlarini hisoblash, Ferment faoliyatiga ta'sir etuvchi omillarni aniqlash imkonini beradi.

Zarur jihozlar va asbob-uskuna: Spektrofotometr, reaksiya idishlari (test trubkalar), mikropipetkalar, ferment (amilaza, laktaza, yoki peroksidaza), substrat (peroksid, maltosa), Ph buferi, Vortex aralashtiruvchi, suv hammomi (tempertura nazorati uchun), kronometrlash uchun soat, pH meter.

Nazariy qism

Fermentlar kinetikasi – bu fermentlarning substrat bilan o'zaro ta'sirini va katalitik jarayon tezligini o'rganadigan fan sohasi. Biokimyoviy reaksiyaning tezligi ferment konsentratsiyasi, substrat miqdori, pH darajasi, harorat, ion kuchi va boshqa ko'plab omillarga bog'liq.

- ✓ Ferment reaksiyasining asosiy bosqichlari:
- ✓ Substratning fermentning aktiv markaziga birikishi.
- ✓ Ferment-substrat kompleksi hosil bo'lishi.
- ✓ Substratning mahsulotga aylanishi.
- ✓ Fermentning qayta tiklanib yangi reaksiyada ishtirok etishi.

Michaelis–Menten kinetikasi ferment reaksiyasini o'rganishda eng muhim model hisoblanadi. Bu modelga ko'ra, reaksiya tezligi substrat konsentratsiyasi ortishi bilan ma'lum darajagacha ortadi, keyin maksimal tezlikka (V_{max}) yetadi.

Matematik ifoda: $v = \frac{K_m + [S]}{V_{max}[S]}$

bu yerda:

v – ferment reaksiyasi tezligi

$[S]$ – substrat konsentratsiyasi

V_{max} – ferment reaksiyasining maksimal tezligi

K_m – Michaelis konstantasi, fermentning substratga bo'lgan "yoqimligi"ni bildiradi.

Grafik talqin qilishda 2 asosiy usul qo'llanadi:

Michaelis–Menten grafigi: substrat konsentratsiyasi $[S]$ ga qarshi tezlik (v) chiziladi. Grafik egri chiziqli ko'rinishda bo'ladi.

Lineweaver–Burk grafigi: $(1/v)$ ga qarshi $(1/[S])$ chiziladi. Bu grafik to'g'ri chiziqli ko'rinishda bo'lib, undan K_m va V_{max} aniqroq topiladi.

Fermentlar kinetikasini chuqur o'rganish orqali dori ishlab chiqishda fermentlar qanday sharoitda faol ishlashini bilib olish mumkin. Masalan, antibiotiklar ishlab chiqishda ba'zi fermentlarning faoliyatini tormozlash yoki faollashtirish asosiy maqsad hisoblanadi.

Shu sababli fermentlar kinetikasini o'lchash va grafik talqini farmatsevtika-biokimyo ta'limining ajralmas qismi hisoblanadi.

Ishni bajarish tartibi

Tayyorlov bosqichi: Zarur bo'lgan asbob-uskunalar va reaktivlar tekshiriladi. Spektrofotometr kalibrovka qilinadi. Substrat eritmaları turli konsentratsiyalarda tayyorlanadi.

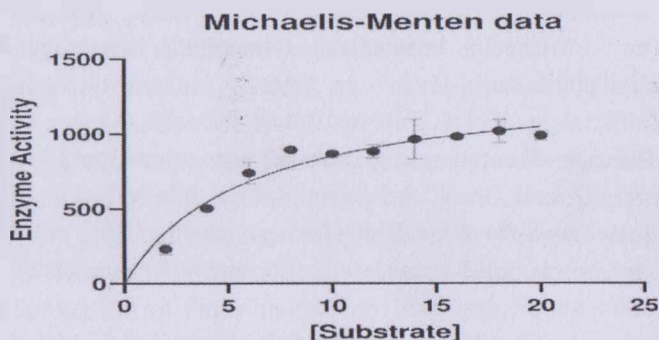
Ferment eritmasi tayyorlash: Standart ferment eritmasi (katalaza, amilaza yoki tripsin) olinadi. Har bir tajriba uchun bir xil hajmda ishlatiladi.

Reaksiya jarayoni: Probirkaga bufer eritma, ferment eritmasi va ma'lum konsentratsiyadagi substrat eritmasi qo'shiladi. Reaksiya boshlanish vaqti timer bilan belgilanadi.

Tezlikni aniqlash: Har bir tajribada reaksiya mahsuloti (rangli birikma) hosil bo'lish tezligi spektrofotometr yordamida o'lchanadi. Optik zichlik (OD) qiymati vaqt bo'yicha qayd qilinadi.

Ma'lumotlarni yozib borish: Substrat konsentratsiyasi va reaksiya tezligi (OD/min) maxsus jadvalga kiritiladi.

Grafik chizish: Michaelis–Menten grafigi: $[S]$ ga qarshi v chiziladi, Lineweaver–Burk grafigi: $(1/[S])$ ga qarshi $(1/v)$ chiziladi.



20.1-rasm

Natijalarni tahlil qilish: Grafiklardan K_m va V_{max} qiymatlari aniqlanadi.

Nazorat savollari

1. Michaelis-Menten tenglamasi nima va uning ko'rsatkichlari qanday tushuniladi?
2. Fermentlarning maksimal reaksiya tezligini qanday aniqlash mumkin?
3. Substrat konsentratsiyasining fermentativ reaksiya tezligiga ta'siri qanday o'zgaradi?
4. Lineweaver-Burk grafikasi qanday tuziladi va u qanday ma'lumot beradi?
5. Eadie-Hofstee grafikasi orqali qanday xulosalar chiqarish mumkin?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Ferment reaksiyalarining tezligini o'lchashda eng ko'p qo'llaniladigan asbob:

- A) Mikroskop
- B) Spektrofotometr
- C) Termostat
- D) pH-metr

2. Michaelis konstantasi (K_m) nimani bildiradi?

- A) Fermentning maksimal tezligi
- B) Substratga bo'lgan yaqinligi
- C) Fermentning ingibitsiyaga chidamliligi
- D) Optimal pH qiymati

3. Reaksiyaning maksimal tezligi qanday belgilanadi?

- A) V_m
- B) V_{max}
- C) K_m
- D) V_{min}

4. Substrat konsentratsiyasi ortganda reaksiya tezligi qanday o'zgaradi?

- A) Doimo ortadi
- B) Avval ortadi, so'ng V_{max} ga yetgach barqarorlashadi
- C) Hech qanday o'zgarish bo'lmaydi
- D) Pasayadi

5. Lineweaver-Burk grafigi qanday ko'rinishda bo'ladi?

- A) Egri chiziq
- B) To'g'ri chiziq
- C) Parabola
- D) Giperbola

6. Raqobat ingibitsiyasida ingibitor qayerga birikadi?

- A) Faol markazga
- B) Substratga
- C) Mahsulotga
- D) Yon zanjirga

7. Ferment reaksiyasi tezligining vaqtga bog'liq grafik ko'rinishi qanday?

- A) Doimiy chiziq
- B) Egri chiziq
- C) Giperbola
- D) To'g'ri chiziq

8. Optimal pH qiymatida ferment faoliyati qanday bo'ladi?

- A) Eng past
- B) Eng yuqori
- C) O'rtacha
- D) O'zgarishsiz

9. K_m kichik bo'lsa, ferment-substrat munosabati qanday bo'ladi?

- A) Past
- B) Yuqori
- C) O'rtacha
- D) Mustaqil

10. Ferment kinetikasida ingibitorlarning roli nima?

- A) Reaksiyani tezlashtiradi
- B) Reaksiyani sekinlashtiradi
- C) Substrat hosil qiladi
- D) V_{max} ni oshiradi

21-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Sut kislotali bakteriyalarni biotexnologik jihatdan o'rganish

Mashg'ulot maqsadi: Sut kislotali bakteriyalar (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Streptococcus thermophilus* va boshqalar) oziq-ovqat biotexnologiyasi, farmatsevtika va tibbiyotda katta ahamiyatga ega mikroorganizmlardir. Ular probiotik xususiyatlarga ega bo'lib, inson ichak mikroflorasini normallashtiradi, immun tizimini mustahkamlaydi va ko'plab kasalliklarning oldini olishda qo'llanadi.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Sut kislotali bakteriyalar biotexnologik jarayonlarda keng qo'llaniladi, xususan, fermentatsiya jarayonlari va probiotiklar ishlab chiqarishda. Ushbu bakteriyalar nafaqat oziq-ovqat sanoatida, balki farmatsevtika va veterinariya sohalarida ham muhim ahamiyatga ega. Ular mikrobiota balansini saqlash va sog'liqni saqlashda muhim rol o'ynaydi.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar

1. Steril sharoit yaratish uchun laminar shkaf yoki spirt lampasi
2. Termostat va inkubator (37 °C da ishlash uchun)
3. Mikroskop va Gram bo'yash to'plami
4. Steril probirkalar, Petri kosachalari, pipetkalar
5. pH-metr
6. Avtoklav (sterilizatsiya uchun)
7. Oziqlantiruvchi muhit: MRS agar va sut eritmalari
8. Timer, termometr

Nazariy qism

Sut kislotali bakteriyalar (SKB) gram-musbat, spora hosil qilmaydigan, anaerob mikroorganizmlar bo'lib, ular uglevodlarni fermentatsiya qilib sut kislotasi hosil qiladi. Bu bakteriyalar asosan

Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus thermophilus kabi turlarga mansub.

Fermentatsiya mexanizmi

SKB laktoza va boshqa uglevodlarni parchalaydi. Jarayon natijasida sut kislotasi, ayrim hollarda esa qo'shimcha ravishda etanol, CO₂ va sirk kislotasi hosil bo'ladi. Shu asosda ular:

Gomofermentativ bakteriyalar – glyukozaaning asosiy qismini sut kislotasiga aylantiradi (*Lactobacillus acidophilus*).

Geterofermentativ bakteriyalar – glyukozadan sut kislotasi bilan birga etanol va CO₂ ishlab chiqaradi (*Leuconostoc mesenteroides*).

Biotexnologik ahamiyati

1. Probiotiklar: SKB asosida tayyorlangan probiotiklar hayvonlarning ichak mikroflorasini normallashtiradi, disbakteriozni oldini oladi, ozuqa hazm bo'lishini yaxshilaydi. Masalan, *Lactobacillus acidophilus* asosida yaratilgan preparatlar chorva mollarida keng qo'llanadi.

2. Oziq-ovqat sanoatida: Qatiq, kefir, pishloq kabi mahsulotlarning ishlab chiqarilishi SKB faoliyatiga asoslanadi. Fermentatsiya jarayoni mahsulotning ta'mi, tuzilishi va saqlanish muddatini belgilaydi.

3. Farmatsevtik preparatlar: SKB tomonidan ishlab chiqarilgan bakteriosinlar (masalan, nisin) patogen bakteriyalarga qarshi tabiiy antibiotik sifatida ishlatiladi. Bu veterinariya sohasida antibiotiklarga muqobil bo'lib xizmat qiladi.

4. Immunomodulyator ta'siri: SKBning metabolitlari hayvonlar immunitetini mustahkamlaydi, patogen mikrofloraning o'sishini cheklaydi.

5. Genetik muhandislikda qo'llanilishi: SKB xavfsizligi (GRAS – Generally Recognized As Safe) tufayli rekombinant oqsillar ishlab chiqarishda, vaksina tashuvchilari sifatida ishlatilmoqda.

Ishni bajarish tartibi

Tayyorlov bosqichi: Zarur asbob-uskunalar tayyorlanadi va sterilizatsiya qilinadi, MRS agar yoki sutli oziqlantiruvchi muhit tayyorlanib, avtoklavda sterilizatsiya qilinadi.

Namuna ekish: SKB kulturasi steril sharoitda probirkalarga yoki Petri kosachalariga inokulyatsiya qilinadi, Mikropipetka yoki steril shpatel yordamida ekish amalga oshiriladi.

Inkubatsiya: Ekilgan namunalar 37 °C haroratda 24–48 soat davomida inkubator yoki termostatda saqlanadi. Bu vaqt ichida bakteriyalar ko'payib, koloniyalar hosil qiladi.

Kuzatish va tahlil: Koloniyalar shakli, rangi va tuzilishi kuzatiladi, tiram bo'yash usuli yordamida bakteriyalar mikroskop ostida ko'riladi (gram-musbat tayoqchalar), Biokimyoviy testlar (pH pasayishi, kislota hosil bo'lishi) bajariladi.

Natijalarni qayd etish: Olingan natijalar maxsus jadvalga yoziladi, SKB faoliyati va biotexnologik xususiyatlari haqida xulosa chiqariladi.

Xavfsizlik choralari: Ish davomida aseptika va antiseptika qoidalariga qat'iy rioya qilinadi, Ish tugagach, barcha muhitlar va materiallar avtoklavda yo'q qilinadi.

Nazorat savollari

1. Sut kislotali bakteriyalarning asosiy turlari qanday?
2. Sut kislotali bakteriyalar biotexnologiyada qanday ishlatiladi?
3. KBlarning probiotik xususiyatlari qanday aniqlanadi?
4. Fermentatsiya jarayonida hosil bo'lgan mahsulotni qanday o'zlash mumkin?
5. Sut kislotali bakteriyalarni qanday sharoitda yetishtirish mumkin?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Sut kislotali bakteriyalar (SKB) qanday asosiy funksiyalarni bajaradi?

- a) To'liq fermentatsiya natijasida metan gazini hosil qilish
- b) Laktaza fermentini ishlab chiqarish orqati sut kislotasini hosil qilish
- c) Glukozani etanolga aylantirish
- d) Ammiak ishlab chiqarish

2. Sut kislotali bakteriyalarni qanday o'sish muhitida inkubatsiya qilish kerak?

- a) Aerob sharoitda 25°C
- b) Anaerob sharoitda 37°C
- c) Anaerob sharoitda 50°C
- d) Aerob sharoitda 15°C

3. Lactobacillus jinsidagi bakteriyalar nima ishlab chiqaradi?

- a) Foydali probiotiklar va antibiotiklar
- b) Faqat vitaminlar
- c) Laktoza
- d) Proteazlar

4. SKBlarning probiotik xususiyatlarini qanday o'lchash mumkin?

- a) Substratning konsentratsiyasini o'lchash orqali
- b) Bakteriyaning ko'payish tezligini o'lchash orqali
- c) Bakteriyaning ichak mikroflorasiga ta'sirini o'rganish orqali
- d) Bakteriyaning o'sish tezligini o'lchash orqali

5. Fermentatsiya jarayonida sut kislotasi qanday hosil bo'ladi?

- a) Sut kislotasi bakteriyalar tomonidan laktaza fermenti orqali hosil bo'ladi
- b) Sut kislotasi to'g'ridan-to'g'ri substratdan hosil bo'ladi
- c) Sut kislotasi faqat aerob sharoitda hosil bo'ladi
- d) Sut kislotasi fermentatsiya jarayonida hosil bo'lmaydi

6. Agar agar muhitining asosiy maqsadi nima?

- a) Bakteriyalarning fermentativ faolligini o'lchash
- b) Bakteriyalarning o'sishini va ko'payishini ta'minlash
- c) Fermentlar ishlab chiqarishni boshqarish
- d) Mahsulotlarni fermentatsiya qilish

7. Probiotiklar nima?

- a) Oziq-ovqat sanoatida ishlatiladigan antibiotiklar
- b) Oziq-ovqat yoki farmatsevtik preparatlarda o'simliklardan olingan foydali bakteriyalar
- c) Bakteriyalarning fermentativ mahsulotlari
- d) Bakteriyalar tomonidan ishlab chiqarilgan toksinlar

8. Fermentatsiya jarayonida bakteriyalar qanday substratni ishlatadi?

- a) Suv va kislorod
- b) Glukoza yoki laktoza
- c) Ammiak
- d) Azot

9. Sut kislotali bakteriyalarni qanday tahlil qilish mumkin?

- a) Ularning pH o'zgarishlarini va hosil bo'lgan mahsulotlarni o'lchash
- b) Ularning mikrofloraga ta'sirini aniqlash
- c) Substrat konsentratsiyasini o'lchash orqali
- d) Ularning kimyoviy tarkibini aniqlash

10. SKB'larning biologik aktivligi qanday o'lchanadi?

- a) Ularning mikrofloradagi o'rinlarini tahlil qilish orqali
- b) Ularning fermentativ faolligini o'lchash orqali
- c) Ularning probiotik ta'sirini aniqlash orqali
- d) Ularning biofermentlar ishlab chiqarishini aniqlash orqali

22-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Antigen va antitana reaksiyalarini amalda ko'rsatish

Mashg'ulot maqsadi: Antigen va antitana reaksiyalarini bilish va ularni amalda qo'llash katta ahamiyatga ega. Chunki turli infeksiyon kasalliklarni tashxislash, vaktsinalar samaradorligini baholash va immunitet holatini nazorat qilish bevosita ushbu reaksiyalar orqali amalga oshiriladi.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Antigen va antitana reaksiyalarini amalda ko'rsatish orqali talabalar immun tizimining asosiy mexanizmlarini, organizmda kasallik qo'zg'atuvchilarni aniqlash va neytrallashtirish jarayonlarini o'z ko'zi bilan ko'radi. Bu esa ularning nazariy bilimlarini mustahkamlab, kelajakda klinik diagnostika va laboratoriya tahlillari olib borishda zarur ko'nikmalarni hosil qiladi. Veterinariya farmatsevtikasi sohasida infeksiyon kasalliklarni aniqlash, vaktsinalarning samaradorligini tekshirish va immunobiologik preparatlar sifatini nazorat qilishda bu bilimlar beqiyosdir.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar

- Mikropipetkalar va ularning uchi
- Probirkalar va probirka stend
- Mikroskop
- Petri kosalari
- Antigen eritmalari
- Antitana eritmalari
- Fiziologik eritma
- Distillangan suv
- Laboratoriya jurnali va markerlar

Nazariy qism

Antigen – bu organizmga tushganda immun javob chaqiruvchi moddadir. Antigenlar oqsillar, polisaxaridlar, lipoproteinlar yoki boshqa kompleks makromolekulalar bo'lishi mumkin. Antitana esa organizm tomonidan antigen ta'sirida hosil qilinadigan oqsil tabiatli immunoglobulin bo'lib, antigen bilan maxsus bog'lanish xususiyatiga ega. Antigen va antitana o'zaro reaksiyaga kirishganda turli xil immunobiologik reaksiyalar kuzatiladi. Masalan: cho'kma reaksiyasi, aglutinatsiya reaksiyasi, neytrallash reaksiyasi, immunoflyuorestsensiya va ELISA (ferment bilan bog'langan immunosorbent analiz). Ushbu reaksiyalar immunologiyada diagnostik maqsadlarda keng qo'llanadi. Cho'kma reaksiyasi antigen va antitana o'rtasida erimaydigan kompleks hosil bo'lishiga asoslanadi. Aglutinatsiya reaksiyasida esa eritrotsitlar yoki bakteriyalar antigen sifatida ishtirok etib, antitanalar ta'sirida yirik komplekslar hosil qiladi. Neytrallash reaksiyasi virus yoki toksinlarni antitanalar yordamida zararsizlantirish jarayonini ko'rsatadi. ELISA usuli esa eng sezgir va keng tarqalgan diagnostik usullardan biri bo'lib, unda antigen va antitananing ferment bilan belgilangan shakli qo'llanadi.

Ishni bajarish tartibi

1. Laboratoriya xavfsizlik qoidalariga rioya qilgan holda ishga kirishiladi.
2. Probirkalarga antigen eritmalari solinadi.
3. Ustiga mos ravishda antitana eritmalari qo'shiladi.
4. Probirkalar ma'lum haroratda (37°C) inkubatsiya qilinadi.
5. Reaksiya jarayoni mikroskop ostida yoki vizual tarzda kuzatiladi.
6. Kuzatilgan natijalar laboratoriya jurnaliga qayd qilinadi.
7. Har bir reaksiyaning natijalari talaba tomonidan tahlil qilinadi va xulosa chiqariladi.

Nazorat savollari

1. Antigen va antitananing asosiy xususiyatlari nimada?
2. Antigen-antitana reaksiyalarining turlari va ularning mohiyati qanday?
3. Veterinariya sohasida antigen va antitana reaksiyalarining qo'llanilishi nimada?
4. ELISA usulining afzalliklari nimada?
5. Cho'kma va aglutinatsiya reaksiyalari o'rtasidagi farqlarni tushuntiring.

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Antigen nima?

- a) Antikorlar bilan reaksiyaga kirishadigan modda
- b) Organizmni kasallikdan himoya qiladigan oqsil
- c) Bakteriyalarga xos ozuqa moddasi
- d) Hech biri

2. Antitela nima?

- a) O'simliklar tomonidan ishlab chiqarilgan modda
- b) Antigenlarni tanib, ularga qarshi immun javob beradigan oqsil
- c) Toksinlar
- d) Bakteriyalarning tuzilish birligi

3. Antigen va antitana o'rtasidagi asosiy farq nima?

- a) Antigen organizmga zarar keltiradi, antitela esa immun tizimi tomonidan ishlab chiqariladi
- b) Antitela organizmga zarar keltiradi, antigen esa himoya qiladi
- c) Antigen tanani himoya qiladi, antitela esa mikroblar bilan kurashadi
- d) Antigen va antitela bir xil vazifani bajaradi

4. Antigen-antitella reaksiyasining asosiy printsiplari nima?

- a) Antigen va antitela bir-birini neytrallashtiradi
- b) Antigen va antitela o'rtasida kimyoviy bog'lanish yuzaga keladi
- c) Antigen va antitela bir xil bo'lishi kerak
- d) Antigenlar faqat yirik molekulalarda mavjud

5. ELISA testining asosiy maqsadi nima?

- a) Viruslarni identifikatsiyalash
- b) Antigen va antitella o'rtasidagi reaksiyani o'lchash
- c) Bakteriyalarni ajratib olish
- d) Proteinlarning to'liq tahlilini qilish

6. Antigen-antitella kompleksining hosil bo'lishi qanday aniqlanadi?

- a) Rang o'zgarishlari va floresans yordamida
- b) Bakteriyalarni ajratib olish orqali
- c) Enzimlar yordamida
- d) Harorat o'zgarishi orqali

7. Immunofluoresans usulining afzalligi nima?

- a) Yuqori aniq natijalar beradi va mikroskop yordamida tez aniqlanadi
- b) Mahsulotni yuqori haroratda saqlash imkonini beradi
- c) Tahlil jarayoni uzoq vaqt davom etadi
- d) Tekshiruvlar arzon narxlarda amalga oshiriladi

8. Antigen-antitella reaksiyalari qanday jarayonda qo'llaniladi?

- a) Tibbiy diagnostika
- b) Yangi farmatsevtik preparatlar ishlab chiqarish
- c) Kasalliklarni aniqlash
- d) Barchasi

9. Western Blotting usulida qanday reaksiyalar amalga oshiriladi?

- a) Antigen va antitella o'rtasidagi reaksiyalarni o'lchash
- b) Ma'lum proteinlarni ajratish va o'lchash
- c) Viruslarni identifikatsiyalash
- d) Mikroorganizmlarning o'sishini tekshirish

10. Immunoassay usullari orasida antigen-antitella reaksiyasidan foydalanishning asosiy afzalligi nima?

- a) Testlar qisqa va tez bajariladi
- b) Mahsulotlar tez taqdim etiladi
- c) Natijalar noto'g'ri bo'lishi mumkin
- d) Yangi texnologiyalarni qo'llash zarurati

23-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Biotexnologik dori vositalarining barqarorligini aniqlash

Mashg'ulot maqsadi: Talabalarni biotexnologik dori vositalarining barqarorligi tushunchasi bilan tanishtirish, uning turlarini (jismoniy, kimyoviy, biologik) o'rganish va amaliyotda barqarorlikni baholash usullarini o'zlashtirish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Biotexnologik dori vositalari (masalan, insulin, monoklonal antitanachalar, vaksinlar) an'anaviy kimyoviy dori vositalariga nisbatan murakkab tuzilishga ega bo'lib, tashqi omillar (harorat, yorug'lik, pH) ta'siriga juda sezgir hisoblanadi. Ularning barqarorligi dori vositasining samaradorligi va xavfsizligini ta'minlashda hal qiluvchi rol o'ynaydi.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar

1. Termostat
2. Muzlatgich
3. Spektrofotometr
4. pH o'lchagich
5. Mikrobiologik incubator
6. Steril idishlar
7. Mikropipetkalar

Nazariy qism

Biotexnologik dori vositalari oqsil, peptid, nuklein kislota va hujayra asosidagi preparatlar bo'lib, ular fizik-kimyoviy hamda biologik omillarga sezgir hisoblanadi. Bunday preparatlarning barqarorligi harorat, yorug'lik, pH, mexanik ta'sir va mikroorganizmlar ta'sirida o'zgarishi mumkin.

Barqarorlik sinovlari qisqa muddatli va uzoq muddatli ko'rinishda o'tkaziladi. Qisqa muddatli sinovlarda preparat yuqori harorat va namlik sharoitida saqlanib, uning fizik-kimyoviy va biologik xususiyatlari

o'rganiladi. Uzoq muddatli sinovlarda esa real saqlash sharoitlari taqlid qilinadi va dori vositasining saqlanish muddati aniqlanadi.

Spektrofotometrik usullar yordamida dori vositasining faol moddalari konsentratsiyasi nazorat qilinadi. pH o'zgarishlari preparatning barqarorligiga katta ta'sir ko'rsatadi. Bundan tashqari, steril muhitda o'tkaziladigan mikrobiologik sinovlar dori vositasining mikroorganizmlarga qarshi chidamliligini baholash imkonini beradi.

Ishni bajarish tartibi

1. Biotexnologik preparatdan namunalar olinadi.
2. Namunalarning fizik-kimyoviy xususiyatlari (pH, rang, tiniqlik) qayd qilinadi.
3. Spektrofotometr yordamida asosiy faol moddaning konsentratsiyasi o'lchanadi.
4. Namuna turli harorat va yorug'lik sharoitida saqlanadi (4°C, 25°C, 40°C).
5. Ma'lum vaqt oralig'ida (1 hafta, 1 oy, 3 oy) preparat qayta tahlil qilinadi.
6. Olingan natijalar jadvalga kiritilib, preparatning barqarorlik darajasi baholanadi.

Nazorat savollari

1. Biotexnologik dori vositalariga nimalar kiradi?
2. Barqarorlikni aniqlashda qanday usullar qo'llaniladi?
3. Qisqa muddatli va uzoq muddatli barqarorlik sinovlari o'rtasidagi farq nima?
4. Harorat va pH dori vositalarining barqarorligiga qanday ta'sir ko'rsatadi?
5. Farmatsevtikada barqarorlik sinovlarining amaliy ahamiyatini tushuntiring.

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Biotexnologik dori vositalari qanday usulda olinadi?
A) Kimyoviy sintez

B) Biotexnologik jarayonlar

C) Faqat tabiiy yo'l bilan

D) Mineral moddalar orqali

2. Barqarorlik sinovlarining asosiy maqsadi nima?

A) Preparatning ta'mini tekshirish

B) Preparatning terapevtik samaradorligini aniqlash

C) Saqlanish muddatini belgilash

D) Rangini baholash

3. Qisqa muddatli barqarorlik sinovlari qanday sharoitda o'tkaziladi?

A) Past harorat

B) Yuqori harorat va namlik

C) Oddiy xona sharoiti

D) Steril sharoit

4. Spektrofotometrik usullar yordamida nima aniqlanadi?

A) Preparatning rangi

B) Faol moddaning konsentratsiyasi

C) Mikroorganizmlarining

D) Harorat

5. pH o'zgarishi dori vositasiga qanday ta'sir qiladi?

A) Rangi o'zgaradi

B) Faol modda parchalanadi

C) Ta'mi o'zgaradi

D) Hech qanday ta'sir qilmaydi

6. Uzoq muddatli barqarorlik sinovlari nimani ko'rsatadi?

A) Preparatning qisqa vaqt ichidagi xususiyatlarini

B) Real saqlash sharoitidagi o'zgarishlarni

C) Rang o'zgarishini

D) Preparatni tez buzilishini

7. Biotexnologik dori vositalarining barqarorligiga qaysi omil eng ko'p ta'sir qiladi?

A) Yorug'lik, harorat va pH

B) Og'irlik kuchi

C) Rang

D) Hajmi

8. Mikrobiologik barqarorlik sinovlari nima uchun o'tkaziladi?

A) Preparatning steril qolishini tekshirish

B) Preparatning ta'mini aniqlash

C) Preparatning rangi o'zgarishini kuzatish

D) Preparatni qadoqlash

9. Biotexnologik preparatlarning barqarorligi nega muhim?

A) Sifat va xavfsizlikni ta'minlash uchun

B) Rangini chiroyli qilish uchun

C) Narxini arzonlashtirish uchun

D) Faqat reklama uchun

10. Preparatni turli haroratlarda saqlashning maqsadi nima?

A) Ta'mini o'zgartirish

B) Uning barqarorligini baholash

C) Narxini kamaytirish

D) Qadoqlashni yaxshilash

24-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Biotexnologik preparatlarda oqsil miqdorini aniqlash
(Lowry yoki Bradford usuli)

Mashg'ulot maqsadi: Ushbu amaliy mashg'ulotning maqsadi talabalarni biotexnologik preparatlarda oqsil miqdorini aniqlashning ikki keng qo'llaniluvchi metodi Lowry va Bradford usullari bilan tanishtirish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savoi-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Oqsil miqdorini aniq bilish biotexnologik preparatlarning sifat nazorati, dozlash hisob-kitobi ahamiyatga ega. Veterinariya farmatsevtika sohasida vaksinalar, antitela preparatlari va boshqa biologik mahsulotlarda oqsil konsentratsiyasi ularning potentsiyasi va xavfsizligini belgilaydi.

Zarur asbob-uskunalar va reagentlar:

- Spektrofotometr yoki mikrotitr plate-reader (OD 595 va OD 750/650 o'qiy olishi)
- Mikropipetkalar va ularning uchi (10–1000 μ l)
- Mikrotitr plitalar yoki spektrofotometr probirkalari
- Centrifuga va steril probirkalar
- Standard BSA (bovin serum albumin) standart eritmaları (ma'lum konsentratsiyalar)
- Lowry reagenti to'plami (alkalinizatsiya va Folin–Ciocalteu reagentlari)
- Bradford reagent (Coomassie Brilliant Blue G-250 asosida tayyorlangan)
- Distillangan suv, buferlar (PBS), reagentlar uchun thermostat
- Qog'oz, marker, laboratoriya jumali

Nazariy qism:

Oqsillarni kvantitativ aniqlash biokimyo va biotexnologiya laboratoriyalarida asosiy analitik vazifa hisoblanadi. Lowry va Bradford

Ushbu usullari oqsil konsentratsiyasini spektrofotometrik o'lchashga moslangan rangli reaksiyalar orqali aniqlashga mo'ljallangan bo'lib, har bir usulning o'ziga xos afzalliklari va cheklovlari mavjud.

Lowry usuli (Lowry et al., 1951) ikki bosqichli kimyoviy reaksiyaga asoslanadi: birinchi bosqichda oqsil peptid bog'lari Cu^{2+} ioni bilan kompleks hosil qilib, alkalik muhitda biuret reaksiyasiga o'xshash rang hosil qiladi. Ikkinchi bosqichda Folin-Ciocalteu reagentiga qo'shilgan aralashma fenol va boshqa aromatik qoldiqlarga ta'sir etib, intensiv ko'k rang hosil qiladi. Ushbu usul sezgirligi yuqori bo'lib (odatda $\text{ng}/\mu\text{l}$ miqdorlarni aniqlashga imkon beradi) va protein strukturasi hamda aromatik aminokislotalar (tyrosine, tryptophan) miqdoriga bog'liq. Lowry usuli bilan o'lchashda nitrat, fenol, ba'zi detarjentlar hamda boshqa reagentlar interferensiya qilishi mumkin. Shuningdek, usul ancha vaqt talab qilishi (reaksiya va inkubatsiya bosqichlari) va reagentlarning tayyorlanishi bilan murakkabroq. Bradford usuli (Bradford, 1976) Coomassie Brilliant Blue G-250 bo'yoq asosida ishlaydi. Bo'yoq pH 1 ko'rsatkichida protonlangan holda sariq rangda bo'ladi; bo'yoq oqsil bilan bog'langanda (ayniqsa arginin, fenilalanin, histidin va boshqa gidrofobik yuzalar orqali) bo'yoq ionlashtiriladi va ko'k rangga o'tadi. Ushbu o'zgarish OD 595 nm da o'lchanadi. Bradford usuli tez, oddiy va kam reagent talab qiladi hamda detarjentlarga nisbatan ba'zi hollarda kamroq sezgir bo'ladi. Biroq uning sezgirligi va reaksiyasi protein turiga bog'liq; ayrim peptidlar va kichik peptidli birikmalarni past baholashi mumkin. Shuningdek, yuqori konsentratsiyadagi SDS kabi anion detarjentlar Bradford reaksiyasiga sezilarli ta'sir ko'rsatadi.

Uslullarni solishtirishda quyidagi jihatlar muhim:

— Sezgirlik: Lowry > Bradford odatda sezgirroq bo'lishi mumkin, ammo amaliy sharoitda farq kichik.

— Xatolik manbalari: Lowry kimyoviy interferensiyalar (fenol, nitrillar). Bradford esa detarjentlar va protein turi bilan bog'liq xatolarga moyil.

Ishni bajarish tartibi:

1. Standartlar tayyorlash:- BSA (bovin serum albumin) dan 1 mg/ml boshlang'ich konsentratsiyada ishlaydigan stok eritmasini

tayyorlang. Keyin seriyali 2 yoki 3 baravar suyultirish orqali standart nuqtalarni hosil qiling (masalan, 0, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$).

2. Namuna tayyorlash:- Biotexnologik preparat namunasi (vaksina, rekombinant oqsil eritmasi va boshqalar) agar kerak bo'lsa, centrifugatsiyadan o'tkazilib, to'liq eriydigan fraksiyalari olinadi. Namuna pH va detarjent tarkibini tekshirib, zarur bo'lsa mos dilutions (suyultirish) bajariladi.

3. Bradford usuli:- Mikrotitrlash plakati yoki spektrofotometr uchun probirka tanlanadi. Har bir standart va namuna uchun 200 μl Bradford reagentiga 20 μl namunani qo'shing (yoki manufaktura tavsiyalariga muvofiq aralashmani yengil silkiting va 5–10 daqiqa turing (maks 60 daqiqa). 595 nm da absorbansni o'lchang. Standartlar uchun kalibrovka chizig'i tuzing (OD 595 vs $\mu\text{g/ml}$) va namunalar kontsentratsiyasini hisoblang.

4. Lowry usuli: Namuna va standartlarni avval biuret tipidagi Cu^{2+} aralashmasiga qo'shib alkalın sharoitda inkubatsiya qiling (odatda 10–20 daqiqa), so'ng Folin–Ciocalteu reagentini qo'shing va yana inkubatsiya qiling (30 daqiqa qorong'i sharoitda), 750 nm (yoki 650–750 nm oralig'ida tavsiya etilgan) da absorbansni o'lchang, standartlar asosida kalibrovka chizig'ini tuzib namunalar kontsentratsiyasini hisoblang.

5. Natijalarni solishtirish va validatsiya: Ikkala usuldan olingan qiymatlarni jadvalga kiriting va farqni hisoblang.

Sinov rejimi jadvali (namuna jadvali va vaqt nuqtalari):

Namuna ID	Saqlash sharoiti	Vaqt nuqtasi	Analiz turi	Qaydlar
S1	4°C	0	Bradford, Lowry	Boshlang'ich
S1	4°C	1 hafta	Bradford, Lowry	
S1	25°C	1 hafta	Bradford, Lowry	
S2	40°C	3 kun	Bradford, Lowry	Stress test

Agar namuna tarkibida detarjent yoki fenolik moddalar mavjud bo'lsa, bu Lowry yoki Bradford natijalariga ta'sir qilishi mumkin. Replikalar (har bir namuna uchun kamida 3 marta) bajarilishi kerak, natijalar statistika (o'rtacha, standart og'ish) yordamida talqin qilinadi.

Grafik shablonlari (kalibrovka egri chizig'i va namunaviy degradatsiya kinetikasi):

1) Kalibrovka egri chizig'i: OD (595 nm yoki 750 nm) o'qqa qarshi oqsil konsentratsiyasi ($\mu\text{g/ml}$) qiymatini chizing. Grafikda R^2 koeffitsienti ko'rsatilishi shart.

2) Degradatsiya kinetikasi namunasi: vaqt (kunlar) ga qarshi qolgan konsentratsiya (%) grafikida birinchi yoki ikkinchi darajali reaksiya modeliga moslashtirishni ko'rsating.

Nazorat savollari:

1. Lowry va Bradford usullarining asosiy farqlari nimada?
2. Qaysi usul detarjentlarga ko'proq sezgir va nima uchun?
3. Kalibrovka chizig'ini tuzishda nimaga e'tibor berish kerak?
4. Namunalarda interferensiyalar yuzaga kelganda qanday strategiyalar qo'llanadi?
5. Mashg'ulotda qaysi metodni real laboratoriya sharoitida afzal ko'rgan bo'lardingiz va nima uchun?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Bradford usulida absorbans qaysi to'lqin uzunligida o'lchanadi?
A) 280 nm
B) 595 nm
C) 750 nm
D) 450 nm
2. Lowry usulida asosiy reagent nima?
A) Coomassie boyogi
B) Folin-Ciocalteu reagent
C) Biuret reagent
D) Ninhydrin

3. Qaysi usul odatda tezroq va ko'p namunalarni tez o'lchashga mos?

- A) Lowry
- B) Bradford
- C) Kjeldahl
- D) UV absorbans

4. Bradford usuli qaysi amino kislotalarga ko'proq bog'lanadi?

- A) Cysteine
- B) Arginine va boshqa hidrofobik yuzalar
- C) Glycine
- D) Aspartate

5. Lowry natijalariga quyidagi moddalar interferensiya qilishi mumkin:

- A) Fenollar va nitritlar
- B) Tuproq zarralari
- C) Vitamin C emas
- D) Distillangan suv

6. Kalibrovka egri chizig'ida R2 qiymati nimani anglatadi?

- A) Rang o'zgarishini
- B) Ma'lumotlarning mosligini va linearitetni
- C) Haroratni
- D) pH ni

7. Bradford usulida reaksiyani qancha muddat kutish tavsiya etiladi (odatda)?

- A) 5–10 daqiqa
- B) 60 daqiqa
- C) 24 soat
- D) 1 daqiqa

8. Lowry usulida o'lchanadigan to'lqin uzunligi odatda nechchi nm?

- A) 595 nm
- B) 750 nm yoki 650–750 oralig'ida
- C) 280 nm
- D) 450 nm

9. SOP nima uchun muhim?

- A) Testlarni tasodifiy bajarish uchun
- B) Analitik usullarni standartlashtirish va takrorlanishini ta'minlash uchun
- C) Faqat hujjat to'ldirish uchun
- D) Farq yo'q

10. Namunalar uchun replikatlar necha marta bajarilishi tavsiya etiladi?

- A) 1 marta
- B) Kamida 3 marta
- C) 10 marta
- D) 0 marta

25-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Antibiotik faoliyatini aniqlash: zona ingubatsiyasi usuli

Mashg'ulot maqsadi: Antibiotiklarning mikroorganizmlarga qarshi samaradorligini baholash, turli antibiotik turlari faoliyatini taqqoslash va zona inhibatsiyasi usuli orqali ularning mikroblarga ta'sir kuchini aniqlash.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'limi yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Antibiotiklar zamonaviy tibbiyot va veterinariya farmatsevtikasida infeksiyon kasalliklarni davolashda eng muhim dori vositalaridan biridir. Ularning samaradorligini aniqlash jarayoni nafaqat klinik amaliyotda, balki yangi antibiotiklarni ishlab chiqishda ham dolzarb masalalardan hisoblanadi.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar.

Steril Petri kosachalari

Agar ozuqa muhitlari (nutrient agar, Mueller-Hinton agar)

Steril pipetkalar va shpatellar

Steril filtrlash qog'oz diskchalari

Inokulyatsiya halqalari

Mikropipetkalar

Termostat (inkubator)

Antibiotik eritmaları (penitsillin, streptomitsin va boshqalar)

Steril distillangan suv

Mikrob madaniyati (test-kultura sifatida E. coli, S. aureus, P. aeruginosa)

Vernyer shkalali lineyka yoki mikrometr (zona diametrini o'lchash uchun).

Nazariy qism

Antibiotiklar – bu mikroorganizmlar yoki ularning yarim sintetik va sintetik analoglari tomonidan ishlab chiqariladigan biologik faol moddalar bo'lib, ular boshqa mikroorganizmlarning o'sishini inhibe

qiladi yoki ularni nobud qiladi. Antibiotiklarning ta'sir mexanizmi turlicha: ular hujayra devorini sintezini buzadi, oqsil biosintezini to'xtatadi, DNK replikatsiyasi yoki metabolik yo'llarga xalaqit beradi. Shu sababli har bir antibiotikning samaradorligi ma'lum mikroorganizmlarga qarshi farq qiladi.

Zona inhibatsiyasi usuli (disk-diffuziya usuli deb ham ataladi) antibiotiklarning sezgirliğini aniqlashda eng ko'p qo'llaniladigan metoddir. Bu usulda steril filtrlash qog'ozidan tayyorlangan disk antibiotik eritmasi bilan shindiriladi va u mikroblar bilan inokulyatsiya qilingan agarga joylashtiriladi. Agar antibiotik mikroorganizmlarga ta'sir ko'rsatsa, disk atrofida bakteriyalar o'smasligi zonasi hosil bo'ladi. Ushbu zona "inhibitsiya zonasi" deb ataladi.

Zona diametri antibiotikning samaradorligiga bog'liq: diametr katta bo'lsa – antibiotik kuchli, kichik bo'lsa – antibiotikning ta'siri zaif hisoblanadi. Shu asosda antibiotikning sezgirlik darajasi quyidagicha baholanadi:

- **Keng zona (≥ 20 mm):** yuqori sezgirlik
- **O'rta zona (15–19 mm):** o'rta sezgirlik
- **Tor zona (≤ 14 mm):** rezistentlik

Veterinariya sohasida antibiotik sezgirliğini aniqlash dori vositalarini oqilona tanlash va antibiotiklar rezistentligini oldini olishda muhim ahamiyatga ega.

Antibiotiklarni nazoratsiz qo'llash natijasida bakteriyalar tezda moslashib, dori vositalariga chidamli (rezistent) shtammlar paydo bo'lishi mumkin. Bu esa nafaqat davolash samaradorligini kamaytiradi, balki yangi kasalliklarning paydo bo'lishiga ham olib keladi. Shu sababli antibiotiklarning samaradorligini muntazam tekshirish farmatsevtik amaliyotning ajralmas qismidir.

Ishni bajarish tartibi

1. Mikroblar suspenziyasi tayyorlash: O'rganiladigan mikroorganizmlardan standart inokulyum (0,5 McFarland) tayyorlanadi.

2. Ozuqa muhitini ekish: Tayyorlangan mikroblar suspenziyasi Petri kosasidagi Mueller-Hinton agarga teng ravishda surtiladi.

3. **Antibiotik disklarini joylashtirish:** Steril qog'oz diskchalari turli antibiotik eritmaları bilan shimdiriladi va Petri kosasiga joylashtiriladi. Disklar orasida masofa saqlanishi zarur.

4. **Inkubatsiya qilish:** Kosalar 35–37°C haroratda 18–24 soat davomida inkubatorga qo'yiladi.

5. **Natijalarni o'lchash:** Inkubatsiyadan so'ng antibiotik diskchalari atrofida hosil bo'lgan inhibitsiya zonaları diametri lineyka yoki mikrometr yordamida millimetrdagi o'lchanadi.

6. **Baholash:** Olingan natijalar antibiotik sezgirligi standart jadvaliga solishtiriladi.

7. **Xulosa chiqarish:** Mikroorganizm sezgir, o'rtacha sezgir yoki rezistent ekanligi aniqlanadi.

Nazorat uchun savollar

1. Antibiotikning faolligi nima degani? Zona inhibitsiyasi usuli bu faollikni qanday aniqlaydi?

2. Nima sababdan bu usulda faqat ma'lum oziq muhit (Müller-Hinton agari) va standart test shtammi ishlatiladi?

3. McFarland standartining maqsadi nimadan iborat? Uning qiymati nimaga teng?

4. Agar qatlami qalinligi yoki antibiotik diski konsentratsiyasi o'zgarsa, bu inhibitsiya zonasi diametriga qanday ta'sir qiladi?

5. Nima sababdan antibiotik disklarini bir-biridan kamida 24 mm masofada joylashtirish shart?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Zona inhibitsiyasi usuli yana qanday nom bilan yuritiladi?

a) ELISA

b) Disk-diffuziya usuli

c) Western blot

d) PCR

2. Zona inhibatsiyasi usulida asosiy ozuqa muhiti:
- a) Nutrient broth
 - b) Sabouraud agar
 - c) Mueller-Hinton agar
 - d) MacConkey agar
3. Antibiotikning keng zona hosil qilishi nimani anglatadi?
- a) Zaif ta'sir
 - b) Kuchli antibakterial ta'sir
 - c) Neytral ta'sir
 - d) Mutatsiyani chaqiradi
4. Antibiotik diskchalari qanday materialdan tayyorlanadi?
- a) Plastik
 - b) Filtrlash qog'ozi
 - c) Alyuminiy
 - d) Shisha
5. Antibiotik sezgirligini aniqlash veterinariyada nima uchun muhim?
- a) Yangi vaksina ishlab chiqish uchun
 - b) Dori tanlash va rezistentlikni oldini olish uchun
 - c) Ferment sintezi uchun
 - d) Parazitlarni aniqlash uchun
6. Zona inhibatsiyasi usulida zona diametri qaysi birlikda o'lchanadi?
- a) Santimetr
 - b) Millimetr
 - c) Mikrometr
 - d) Gradus
7. Antibiotiklarning hujayra devoriga ta'sir qiluvchi guruhi:
- a) Tetrasiklin
 - b) Beta-laktam antibiotiklar
 - c) Makrolidlar
 - d) Aminoglikozidlar

8. Rezistentlik nima?

- a) Mikroblarning antibiotikka sezgirligi
- b) Mikroblarning antibiotikka chidamliligi
- c) Mikroblarning tez o'sishi
- d) Antibiotikning parchalanishi

9. Antibiotik faoliyatini tekshirishda ishlatiladigan standart mikroorganizmlardan biri:

- a) *E. coli*
- b) *Candida albicans*
- c) *Plasmodium vivax*
- d) *Trypanosoma*

10. Keng inhibisiya zonasi hosil bo'lsa, mikroblar:

- a) Rezistent
- b) Juda sezgir
- c) Neytral
- d) Inaktiv

26-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Oqsillarni elektroforez usulida ajratish (SDS-PAGE)

Mashg'ulot maqsadi: Ushbu amaliy mashg'ulotning maqsadi – SDS-PAGE usuli yordamida oqsillarni molekulyar massasi va zaryadiga qarab ajratish texnologiyasini o'rganishdir. Talabalar oqsillarni denaturatsiya qilish, polielektroforez gelini tayyorlash va natijalarni talqin qilish ko'nikmalarini egallashlari kerak.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Biotexnologiya va farmatsevtikada oqsillar muhim biologik makromolekulalar hisoblanadi. Oqsil preparatlari (fermentlar, gormonlar, antitanalar) sifatini nazorat qilishda ularning sof tarkibini aniqlash zarur. SDS-PAGE usuli oqsillarni ajratish va ularning molekulyar massalarini aniqlashda eng ko'p qo'llaniladigan usullardan biridir.

Zarur asbob-uskunalar:

- Elektroforez apparati (vertikal)
- Quvvat manbai
- Shisha plastinkalar va to'ldirish tizimi
- Pipetkalar va ularning uchlari
- Termostat (suv hammomi)
- SDS (natr'y dodesilsulfat), Tris-HCl buferi, gellei uchun reaktivlar
- Oqsil namunasi va marker standartlari
- Kumassiy brilliant ko'k bo'yoq
- Jelni yuvish va bo'yash idishlari

Nazariy qism:

Oqsillarni elektroforetik ajratish – bu oqsillarni elektr maydonida harakatlantirish orqali ularni o'lchamiga va zaryadiga qarab ajratish usulidir. SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrylamide Gel Electrophoresis) metodi oqsillarni molekulyar og'irligiga qarab ajratish imkonini beradi. SDS – bu anionik detarjent bo'lib, oqsil zanjiriga

birikib, oqsilning tabiiy konformatsiyasini buzadi va oqsillarga manliy zaryad beradi. Natijada, oqsillar o'zining tabiiy shaklida emas, balki denaturatsiyalangan holatda faqat uzunligi va massasi bo'yicha ajratiladi.

Elektroforezda ishlatiladigan poliakrilamid gel ikki qismdan iborat: konsentratsion (stacking) va ajratish (resolving) qismi. Konsentratsion gel oqsil namunalarini yupqa qatlarga yig'ib beradi, ajratish geli esa ularni molekulyar massasi bo'yicha tartiblaydi. Odatda 10-15% poliakrilamid konsentratsiyasi ishlatiladi. Jarayon davomida oqsil markerlari yordamida noma'lum oqsilning molekulyar massasi aniqlanadi. Elektroforez tugagach, gel maxsus bo'yoqlar (Kumassiy brilliant ko'k yoki kumassiy R-250) bilan bo'yaladi. Bu usul oqsillarni vizualizatsiya qilish imkonini beradi. Natijada hosil bo'lgan bantlarning joylashuvi va qalinligi oqsillarning molekulyar massasi va konsentratsiyasi haqida ma'lumot beradi. SDS-PAGE bugungi kunda biotibbiyot, farmatsevtika va biotexnologiyada keng qo'llaniladi. Masalan, dori preparatlarining sof tarkibini aniqlash, oqsil ifodalanishini tekshirish, rekombinant oqsillarni nazorat qilish va biologik namunalarni tahlil qilishda juda muhimdir.

Ishni bajarish tartibi:

1. Poli-akrilamid gel tayyorlanadi: avval ajratuvchi (resolving) qismi, so'ngra konsentratsiyalovchi (stacking) qism quyiladi.
2. Oqsil namunasi SDS va β -merkaptotanol bilan aralashtirilib, 95 °C da 5 daqiqa davomida denaturatsiya qilinadi.
3. Tayyor bo'lgan namuna va molekulyar marker gel quduqlariga pipetka yordamida joylanadi.
4. Elektroforez jarayoni quvvat manbaiga ulanib, oqsillar gel bo'ylab pastga siljiydi.
5. Elektroforez tugagach, gel ajratish apparatidan olinadi va bo'yash idishiga solinadi.
6. Kumassiy brilliant ko'k eritmasi bilan 1 soat bo'yaladi.
7. Ortiqcha bo'yoq distillangan suv yoki maxsus yuvish eritmasi bilan chiqariladi.

8. Gel natijalari kuzatilib, oqsil bantlari tahlil qilinadi va marker bilan solishtirilib, oqsillarning molekulyar massasi aniqlanadi.

Nazorat savollari:

1. SDS-PAGE usulining asosiy mohiyati nimada?
2. SDS oqsillarga qanday ta'sir qiladi?
3. Konsentratsion va ajratish gellari vazifasi nimadan iborat?
4. Oqsil markerlarining ahamiyati nimada?
5. SDS-PAGE natijalari qanday talqin qilinadi?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. SDS-PAGE usuli oqsillarni qaysi xususiyatiga qarab ajratadi?
A) Erituvchanligi
B) Zaryadi
C) Molekulyar massasi
D) Rangi
2. SDS oqsillarga qanday zaryad beradi?
A) Musbat
B) Manfiy
C) Neytral
D) Zaryadsiz
3. Elektroforez gelining qaysi qismi oqsillarni yig'ib beradi?
A) Ajratish geli
B) Konsentratsion gel
C) Yuvish geli
D) Bo'yash geli
4. Oqsillarni vizualizatsiya qilish uchun ko'p ishlatiladigan bo'yoq qaysi?
A) Safranin
B) Kumassiy brilliant ko'k
C) Metilen ko'k
D) Yod eritmasi

5. SDS-PAGE usuli qaysi sohada keng qo'llaniladi?

- A) Astronomiya
- B) Biotexnologiya
- C) Mexanika
- D) Arxitektura

6. Molekulyar markerlardan foydalanishdan maqsad nima?

- A) Bo'yashni osonlashtirish
- B) Massani aniqlash
- C) Eritmani tayyorlash
- D) Namuna saqlash

7. Oqsillarni denaturatsiya qilish uchun qanday temperatura ishlatiladi?

- A) 25 °C
- B) 37 °C
- C) 95 °C
- D) 4 °C

8. Elektroforez apparati qaysi tamoyil asosida ishlaydi?

- A) Elektr maydoni
- B) Harorat gradienti
- C) Markazdan qochma kuch
- D) Radiatsiya

9. Gel tarkibida poliakrilamidning asosiy vazifasi nima?

- A) Oqsillarni eritish
- B) Oqsillarni ajratish
- C) Bo'yashni kuchaytirish
- D) Denaturatsiya qilish

10. SDS-PAGE natijalarida bant qalinligi nimani bildiradi?

- A) Oqsilning kontsentratsiyasi
- B) Oqsilning shakli
- C) Oqsilning rangi
- D) Oqsilning zaryadi

27-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Biotexnologiyada ishlatiladigan uskunalar bilan ishlash

Mashg'ulot maqsadi: Ushbu mashg'ulotning maqsadi talabalarni biotexnologiya laboratoriyalarida keng qo'llaniladigan asosiy asbob-uskunalar bilan tanishtirish, ularning tuzilishi, ishlash tamoyillari va xavfsizlik qoidalarini o'rgatishdan iborat. Shuningdek, talabalar uskunalar yordamida bajariladigan amaliy jarayonlarning nazariy asoslari bilan tanishadilar.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Biotexnologiyada uskunalar bilan ishlash ko'nikmasi mutaxassisning amaliy faoliyati uchun asosiy zaruriyatlardan biridir. Har bir asbobning to'g'ri qo'llanilishi natijalarning aniqligi va ishlab chiqarilayotgan biopreparatlarning sifatini belgilaydi. Talabalarning bu jarayonda to'g'ri va samarali ishlashni o'rganishi kelajakdagi ilmiy va ishlab chiqarish faoliyatida katta ahamiyat kasb etadi.

Zarur asbob-uskunalar

- Mikrosentrifuga
- Termostat va incubator
- pH-metr
- Spektrofotometr
- Laminar shkaf
- Avtoklav
- Mikropipetkalar va ularga mos uchliklar
- Sterilizatsiya jihozlari

Nazariy qism

Biotexnologiyada qo'llaniladigan uskunalar ko'plab ilmiy tadqiqotlar va ishlab chiqarish jarayonlarining ajralmas qismidir. Masalan, mikrosentrifuga eritmalardagi hujayra va oqsil komponentlarini ajratishda keng qo'llaniladi. Spektrofotometr esa

biomolekulalarning konsentratsiyasini aniqlashda muhim vosita hisoblanadi. pH-metr muhitning kislotalilik va ishqoriylik darajasini o'lchash imkonini beradi, bu esa fermentativ jarayonlar uchun nihoyatda muhimdir. Shuningdek, laminar shkaf steril sharoit yaratishda qo'llanilib, mikroorganizmlar bilan ishlashda xavfsizlikni ta'minlaydi. Avtoklav esa barcha asbob-uskunalar va muhitlarni sterilizatsiya qilish uchun zarurdir. Mikropipetkalar yordamida eritmalar ni aniq hajmda o'lchash va ko'paytirish mumkin. Biotexnologik tadqiqotlarda bu uskunalar n barchasi uyg'un holda qo'llanadi. Uskunalar bilan ishlashda xavfsizlik chora-tadbirlariga amal qilish talab etiladi. Masalan, laminar shkafda ishlaganda steril qo'lqop va niqobdan foydalanish, avtoklavda esa yuqori bosim ostida ishlash qoidalarini bilish juda muhimdir. Bundan tashqari, zamonaviy biotexnologiya korxonalarida yuqori texnologiyali bioreaktorlar ham keng qo'llanilib, ular mikroorganizmlarni optimal sharoitda o'stirish va maqsadli biopreparatlarni ishlab chiqarish imkonini beradi.

Uskunalar bilan ishlashda nafaqat ularning texnik imkoniyatlarini bilish, balki ularni to'g'ri sozlash, profilaktik xizmat ko'rsatish va texnika xavfsizligi talablariga qat'iy rioya qilish talab etiladi.

Ishni bajarish tartibi

1. Mashg'ulot boshlanishidan oldin barcha asbob-uskunalar ishga yaroqli ekanligi tekshiriladi.
2. Talabalar guruhlariga bo'linib, har bir guruhga alohida uskuna bilan ishlash topshiriladi.
3. Mikrosentrifuga bilan ishlashda sinov naychalari muvozanatda joylashtiriladi va kerakli tezlikda ishga tushiriladi.
4. Spektrofotometr yordamida namunalar absorbttsiyasi o'lchanadi natijalar jadvalga yozib olinadi.
5. pH-metr yordamida turli eritmalar pH ko'rsatkichi aniqlanadi.
6. Laminar shkafda steril sharoitda hujayra yoki mikroorganizmlar bilan ishlash amalga oshiriladi.
7. Avtoklavda laboratoriya idishlari va vositalar sterilizatsiya qilinadi.

8. Mashg'ulot yakunida barcha asboblari tozalanadi, o'chirib qo'yiladi va xavfsizlik talablari asosida joyiga qo'yiladi.

9. Talabalar o'z natijalarini yozma ravishda taqdim etadilar va muhokama qiladilar.

27.1-Jadval

Biotexnologiyada ishlatiladigan asosiy uskunalar va ularning vazifalari

Asbob/uskunaning nomi	Vazifasi	Qo'llanish sohalari
Pipetkalar	Suyuqliklarni aniq hajmda o'lchash va ko'chirish	Biotexnologik tahlil, ferment aktivligi, DNK analizlari
Sentrifuga	Komponentlarni zichlik bo'yicha ajratish	Hujayra qismlarini ajratish, oqsil va nuklein kislotalarni to'plash
Termostad	Inkubatsiya jarayonlarini boshqarish	Mikroorganizmlar o'sishini ta'minlash, fermentlar ishlab chiqarish
Bioreaktorlar	Madaniyatlarni inkubatsiya qilish va ularni o'stirish	Hujayra madaniyatlari, mikroorganizmlar, ferment ishlab chiqarish
Electrophoresis apparati	Molekular analizlar, oqsillarni ajratish	Oqsil tahlili, polimeraza zanjir reaksiyasi (PCR), genetik tahlillar
HPLC apparati	Biotexnologik mahsulotlarni tahlil qilish	Tozalik tekshiruv, preparativ xromatografiya

Nazorat savollari

1. Biotexnologiyada eng ko'p qo'llaniladigan asbob-uskunalar qaysilar?
2. Mikrosentrifuganing ishlash prinsipi nimaga asoslangan?
3. Spektrofotometr yordamida qanday tahlillar amalga oshiriladi?
4. Laminar shkafda ishlashda qanday xavfsizlik qoidalariga amal qilish kerak?
5. Avtoklavning ahamiyati nimada?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Spektrofotometr qaysi ko'rsatkichni o'lchash uchun ishlatiladi?
 - a) Harorat
 - b) Absorbtsiya
 - c) Bosim
 - d) Tezlik
2. Mikrosentrifuga ishlash prinsipi nima?
 - a) Elektr toki
 - b) Sentrifugal kuch
 - c) Magnit maydon
 - d) Harorat
3. Laminar shkaf qanday vazifa bajaradi?
 - a) Steril muhit yaratadi
 - b) Bosimni oshiradi
 - c) Eritmalarni aralashtiradi
 - d) Konsentratsiyani o'lchaydi
4. Avtoklavning asosiy vazifasi nima?
 - a) Oqsillarni ajratish
 - b) Sterilizatsiya qilish
 - c) Eritmalarni aralashtirish
 - d) Haroratni o'lchash
5. pH-metr yordamida nima o'lchanadi?
 - a) Eritma ranggi
 - b) Eritma pH ko'rsatkichi
 - c) Eritma hajmi
 - d) Eritma zichligi
6. Mikropipetka qanday vazifani bajaradi?
 - a) Eritmalarni aniq hajmda o'lchash
 - b) Eritmalarni qizdirish
 - c) Eritmalarni muzlatish
 - d) Eritmalarni sterilizatsiya qilish

7. Spektrofotometr yordamida nima aniqlanadi?

- a) Hujayra shakli
- b) Konsentratsiya
- c) Tezlik
- d) Bosim

8. Avtoklavda sterilizatsiya qaysi usulda amalga oshiriladi?

- a) Yuqori bosim va haroratda
- b) Past bosimda
- c) Ultrasonik to'liqlarlarda
- d) Rentgen nurlarida

9. Biotexnologik uskunalar bilan ishlashda qaysi jihat muhim?

- a) Xavfsizlik
- b) Faqat tezlik
- c) Faqat harorat
- d) Faqat steril sharoit

10. Laminar shkafdan foydalanishning asosiy sababi?

- a) Mikroskopik kuzatish
- b) Steril sharoitda ishlash
- c) Eritmalarni aralashtirish
- d) Haroratni ushlab turish

28-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Transgen hayvonlar haqida tahlil

Mashg'ulot maqsadi: Transgen hayvonlar yaratish va ularni ilmiy hamda amaliy jihatdan tahlil qilish metodlarini o'rganish, veterinariya farmatsevtika sohasida qo'llanilishini tushuntirish.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Bugungi kunda biotexnologiya, gen muhandisligi va molekulyar biologiya sohalari tez sur'atlar bilan rivojlanmoqda. Transgen hayvonlar farmatsevtika, tibbiyot, veterinariya va oziq-ovqat sanoatida keng qo'llaniladi. Ularning yordamida:

- Dori vositalari va vaksinalar ishlab chiqariladi.
- Kasallik modellarini yaratish orqali ilmiy tadqiqotlar o'tkaziladi.
- Oqsillar, gormonlar va fermentlar biosintezi ta'minlanadi.
- Genetik kasalliklarni davolash imkoniyatlari o'rganiladi.

Zarur jihozlar va asbob-uskunalar

1. Mikroskoplar (svetli va fluoresan).
2. PCR apparati.
3. Elektroforez uskunasi.
4. Mikropipetkalar va steril probirkalar.
5. Laminar shkaf.
6. DNK vektorlarini kiritish uchun mikroinyeksiya moslamalari.
7. Steril hujayra madaniyati jihozlari.

Nazariy qism

Transgen hayvonlar — genetik jihatdan modifikatsiyalangan organizmlar bo'lib, ularning genomiga boshqa tur yoki sun'iy sintez qilingan genlar kiritiladi. Ushbu texnologiya gen muhandisligi, klonlash, hujayra biologiyasi va molekulyar biotexnologiyaaning asosiy yutuqlaridan biridir.

Transgen hayvonlar yaratishning asosiy metodlari:

Mikroinyeksiya usuli – zigota yadro qismiga tashqi genni kiritish

Retrovirus vektorlaridan foydalanish – zararlangan virus DNK'si orqali transgenning hujayraga kiritilishi.

Klonlash va CRISPR-Cas9 texnologiyasi – genlarni aniq tahrirlash.

Transgen hayvonlarning qo'llanilishi:

Farmatsevtika sanoati: inson insulinini, o'sish gormonini, antitelalarni ishlab chiqarishda.

Veterinariya: hayvon kasalliklariga qarshi vaksinalar ishlab chiqarishda.

Ilmiy tadqiqotlar: Altsgeymer, saraton, qandli diabet kabi kasalliklar modellari.

Oziq-ovqat sanoati: yuqori sifatli sut va go'sht mahsulotlari olish.

Shu bilan birga, transgen hayvonlarning qo'llanilishi axloqiy va ekologik muammolarni ham yuzaga keltiradi. Shu sababli, ularni nazorat qilish, xavfsizligini ta'minlash va qonunchilik asosida tartibga solish muhim ahamiyatga ega.

Ishni bajarish tartibi

1. Hayvon zigotasi olinadi va mikroskop ostida kuzatiladi.
2. Mikroinyeksiya usuli yordamida DNK vaktori zigota yadrosiga kiritiladi.
3. Modifikatsiyalangan embrionlar maxsus inkubatorida rivojlantiriladi.
4. Embrion ona organizmga ko'chirilib, transgen hayvonlar tug'ilishi kutiladi.
5. DNK va oqsil tahlili orqali transgenning mavjudligi tasdiqlanadi.
6. Hayvon fenotipik belgilarining o'zgarishi o'rganiladi.
7. Klinik va laboratoriya sinovlari orqali yangi fenotip farmatsevtika va veterinariya amaliyotiga qo'llanilishi bo'yicha tahlil qilinadi.

Nazorat savollar

1. Transgen hayvonlar genetik jihatdan qanday ta'riflanadi?
2. Qaysi usulda DNK bevosita zigota yadrosiga yuboriladi?
3. CRISPR-Cas9 texnologiyasi qanday maqsadda ishlatiladi?

4. Transgen hayvonlardan olingan oqsillarga misol keltiring.
5. Transgen hayvonlarning qaysi sohaga qo'shgan hissasi eng katta?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. **Transgen hayvon deganda nimani tushunasiz?**
 - a) O'z genetik materiali o'zgartirilmagan hayvon
 - b) Sun'iy ravishda genetik modifikatsiya kiritilgan hayvon
 - c) Faqatgina tabiiy mutatsiya natijasida paydo bo'lgan hayvon
 - d) Genetik modifikatsiyadan xoli seleksiya hayvoni
2. **Transgen hayvonlarni yaratishda ko'p qo'llaniladigan asosiy usul qaysi?**
 - a) Qon analizini o'tkazish
 - b) Mikroin'yeksiya usuli
 - c) Elektrokardiografiya
 - d) Sun'iy urug'lantirish
3. **Transgen hayvonlardan olingan biotexnologik mahsulotlarga misol keltiring:**
 - a) Insulin va interferon
 - b) Antibiotiklar
 - c) Mineral o'g'itlar
 - d) Vitamin D
4. **Transgen hayvonlar qaysi sohada ko'proq qo'llanadi?**
 - a) Astronomiyada
 - b) Farmatsevtika va veterinariyada
 - c) Arxitekturada
 - d) Metallurgiyada
5. **Transgen hayvonlar yordamida ishlab chiqariladigan dori vositalarining afzalligi nimada?**
 - a) Arzonligi va tez ishlab chiqarilishi
 - b) Faqatgina laboratoriya sharoitida mavjudligi
 - c) Tabiiy ravishda o'sishi
 - d) Hech qanday afzalligi yo'q
6. **Transgen hayvonlardan foydalanishda asosiy bioetik muammo nimadan iborat?**

- a) Ularning tez ko'payishi
 - b) Atrof-muhitga salbiy ta'sir ko'rsatishi
 - c) Oziq-ovqat sifatida foydalanish imkoniyati
 - d) Hayvonlarda genetik stress va sog'liq muammolari
- 7. Qaysi transgen hayvon yordamida odam insulinini ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan?**
- a) Sigir
 - b) Qo'y
 - c) Cho'chqa
 - d) Tovuq
- 8. Transgen hayvonlar yordamida yaratilgan mahsulotlarni aniqlashda ko'p qo'llaniladigan usul qaysi?**
- a) PCR (polimeraz zanjir reaksiyasi)
 - b) Ultrasonografiya
 - c) Elektrokardiografiya
 - d) Mikroskopiya
- 9. Transgen hayvonlarning veterinariya farmatsevtikasidagi ahamiyati nimada?**
- a) Genetik kasalliklarni davolash va yangi vaksinalar ishlab chiqishda
 - b) Faqat hayvonlarni ko'paytirishda
 - c) Chorvachilikdagi oziqlantirish tizimini yaxshilashda
 - d) Faqatgina go'sht sifatini oshirishda
- 10. Transgen hayvonlar yordamida ishlab chiqilgan dorilarni qanday nomlashadi?**
- a) Antibiotiklar
 - b) Biologik preparatlar
 - c) Mineral qo'shimchalar
 - d) Sintetik qo'shimchalar

29-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Biotexnologik mahsulotlarning saqlash sharoitlarini o'rganish

Mashg'ulot maqsadi: Ushbu amaliy mashg'ulotning asosiy maqsadi biotexnologik mahsulotlarni saqlash va ularga ta'sir qiluvchi sharoitlarni o'rganishdir. Mahsulotlarning sifatini saqlash uchun optimal sharoitlarni yaratish, saqlash muddati va temperaturaga ta'sirini baholash hamda xavfsizlik choralarini aniqlash talabalar uchun zarur bilimlarni taqdim etadi.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slaydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Biotexnologik mahsulotlar, xususan, biofarmatsevtika mahsulotlari, fermentlar, vaksinalar va boshqa bioaktiv moddalar maxsus saqlash sharoitlarini talab qiladi. Ularning kimyoviy tarkibi va biologik faolligi saqlanishi uchun ma'lum sharoitlar zarur. Saqlash jarayonida temperatura, namlik, yorug'lik va boshqa omillar mahsulot sifatiga ta'sir ko'rsatadi. To'g'ri saqlash sharoitlari mahsulotning samaradorligini va xizmat qilish muddatini oshiradi.

Zarur jihozlar va kerakli asbob-uskunalar

1. **Termostatlar va Sovutgichlar:** Temperatura rejimini boshqarish va mahsulotlarni muvofiq temperaturada saqlash.

2. **Gidrometer (Namlik o'lchagich):** Namlik darajasini o'lchash va uni kerakli darajada ushlab turish.

3. **Ultrabinafsha (UB) lampalari:** Yorug'likning mahsulotga ta'sirini o'rganish uchun.

4. **pH metrlari:** pH darajasini o'lchash va uning ta'sirini baholash.

5. **Sentrifuga:** Mahsulotning tarkibini ajratish va tahlil qilish.

6. **Sifat nazorati asboblari:** Mahsulotlarning sifatini va ishlash holatini aniqlash uchun laboratoriya uskunalari.

7. **Buzilishlarni aniqlash apparatlari:** Mahsulotning saqlash jarayonida yuzaga kelishi mumkin bo'lgan o'zgarishlarni aniqlash.

Nazariy qism

Biotexnologik mahsulotlar va ularning xususiyatlari: Biotexnologik mahsulotlar hayvonlar, o'simliklar yoki mikroorganizmlar orqali ishlab chiqariladi va ularda yuqori biologik faollik mavjud. Bu mahsulotlar orasida:

Fermentlar: O'zgartirilgan mikroob yoki hujayralar orqali ishlab chiqarilgan fermentlar, masalan, amilaza, lipaza va proteazalar.

Vaksinalar: Inson yoki hayvonlarga kasalliklarga qarshi immunitet hosil qilish uchun ishlatiladigan preparatlar.

Gormonlar: Insulin, eritropoetin va boshqa gormonlar, biotexnologiya orqali ishlab chiqariladi.

Monoklonal antitanalar: Xususan, yuqori aniqlik bilan kasalliklarni aniqlash va davolash uchun ishlab chiqarilgan antitanalar.

Mahsulotlar saqlash jarayonida harorat, namlik, yorug'lik va boshqa sharoitlarga juda sezgir bo'lishi mumkin. Ularning sifatini saqlab qolish uchun mos sharoitlar yaratish muhimdir.

Saqlash sharoitlarining mahsulotga ta'siri:

1. Temperatura: Mahsulotlar yuqori yoki past haroratda saqlanganda, ularning kimyoviy va biologik faolligi o'zgarishi mumkin. Masalan, ba'zi fermentlar yoki oqsillar past haroratda saqlanganida aktivligini yo'qotadi. Boshqa mahsulotlar esa yuqori haroratda dekompozitsiya yoki denaturatsiya qilish ehtimoli bor.

2. Namlik: Namlikni boshqarish biotexnologik mahsulotlarning barqarorligini ta'minlashda muhim o'rin tutadi. Juda yuqori namlik darajasi mahsulotning kontaminatsiyaga uchrashiga, patogen mikroorganizmlar o'sishiga sabab bo'lishi mumkin. Past namlik esa, ba'zi mahsulotlarning qurib qolishiga olib keladi.

3. Yorug'lik: Ba'zi biotexnologik mahsulotlar, xususan, vitaminlar yoki dori vositalari, yorug'lik ta'sirida barqarorligini yo'qotishi mumkin. Shuning uchun, mahsulotlarni yorug'likdan saqlash uchun qorong'u joyda saqlash zarur.

4. pH darajasi: Biotexnologik mahsulotlar o'zining faoliyatini pH darajasi bilan bog'liq. Masalan, fermentlar va boshqa biologik moddalarning faoliyati ma'lum pH oralig'ida eng samarali bo'ladi.

Saqlash jarayonida pH darajasining o'zgarishi mahsulot sifatini pasaytirishi mumkin.

Ishni bajarish tartibi

1. **Mahsulotni tanlash:** Dastlab, talabalar biotexnologik mahsulotlar (fermentlar, vaksinalar, gormonlar) orasidan birini tanlab, uning saqlash sharoitlarini o'rganishadi.

2. **Saqlash sharoitlarini belgilash:** Mahsulotni saqlash uchun optimal harorat va namlik sharoitlarini aniqlash zarur. Buning uchun, mahsulotni bir nechta turli temperaturada (masalan, 4°C, 25°C va 37°C) saqlash va har bir sharoitda uning faolligini baholash kerak.

3. **Mahsulotning faolligini o'lchash:** Mahsulotni saqlash sharoitlari ostida biologik faolligini tekshirish uchun laboratoriya testlari o'tkaziladi. Masalan, ferment faoliyatini o'lchash, yoki vaksina tahlilini o'tkazish.

4. **Yorug'lik va pH ta'sirini o'rganish:** Mahsulotni yorug'lik ta'siri va pH o'zgarishi ostida saqlab, ularning ta'sirini tahlil qilish kerak. Ma'lum pH darajasida saqlash mahsulotning uzoq muddatli faolligini ta'minlashda muhim ahamiyatga ega.

5. **Natijalarni tahlil qilish:** Mahsulotlarning saqlash sharoitlariga qanday ta'sir qilishini tahlil qilish, xulosa chiqarish va ular uchun optimal sharoitlarni aniqlash zarur.

6. **Xavfsizlik choralarini ta'minlash:** Biotexnologik mahsulotlarni saqlashda sanitariya va xavfsizlik choralarini qo'llash, zararli mikroorganizmlar va kontaminatsiyaning oldini olish muhimdir.

Nazorat savollari

1. Biotexnologik mahsulotlarni saqlashning asosiy maqsadi nima?
2. Saqlash sharoitlariga ta'sir etuvchi asosiy omillarni sanab bering.
3. Biotexnologik preparatlar uchun eng ko'p qo'llaniladigan saqlash usullari qaysilar?
4. Suyuqlantirilgan (lyofilizatsiyalangan) mahsulotlarni saqlashning afzalliklari nimada?
5. Biotexnologik mahsulotlarning yaroqlilik muddati qanday belgilanadi?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Biotexnologik mahsulotlarni saqlashda asosiy maqsad nima?

- A) Xarajatlarni kamaytirish
- B) Faol moddalar barqarorligini ta'minlash
- C) Rangini o'zgartirmaslik
- D) Ishlab chiqarish tezligini oshirish

2. Biotexnologik preparatlar qaysi omillarga sezgir hisoblanadi?

- A) Harorat, yorug'lik, namlik
- B) Rang va hid
- C) Hajmi va shakli
- D) Faqat havo bosimi

3. Biotexnologik mahsulotlarni uzoq muddat saqlash uchun ko'p qo'llaniladigan usul qaysi?

- A) Quruq saqlash
- B) Lyofilizatsiya (sublimatsion quritish)
- C) Issiq muhitda saqlash
- D) Yorug'likda saqlash

4. Biotexnologik mahsulotlarni past haroratlarda saqlash nima uchun muhim?

- A) Molekulalarni tezroq parchalanishini ta'minlaydi
- B) Biologik faol moddalar barqarorligini saqlaydi
- C) Erituvchini tez bug'latadi
- D) Rangini tiniqlashtiradi

5. Biotexnologik vaksinalar odatda qanday haroratda saqlanadi?

- A) +25 °C
- B) +4 °C dan +8 °C gacha
- C) -70 °C
- D) +15 °C dan yuqori

6. Prototipli biotexnologik preparatlar uchun eng xavfli omil qaysi?

- A) Yorug'lik va yuqori harorat
- B) Faqat rang o'zgarishi
- C) Erituvchi turi
- D) Shakl va hajmi

7. Lyofilizatsiyalangan preparatlar qanday shaklda saqlanadi?

- A) Suyli eritma ko'rinishida
- B) Qattiq quruq massa sifatida
- C) Yogli eritmada
- D) Aerosol shaklida

8. Biotexnologik mahsulotlarni saqlashda yorug'likdan himoyalash qanday amalga oshiriladi?

- A) Shaffof idishlarda saqlash orqali
- B) Maxsus qorong'i idishlarda yoki o'ramda
- C) Faqat issiqlik yordamida
- D) Rangni o'zgartirish orqali

9. Biotexnologik dori vositalarining yaroqlilik muddati qanday belgilanadi?

- A) Ishlab chiqaruvchining xohishiga ko'ra
- B) Saqlash sharoitlari asosida laboratoriya tekshiruvlari orqali
- C) Qadoq dizayni asosida
- D) Savdo muddati asosida

10. Biotexnologik mahsulotlarni saqlashda eng muhim talab qaysi?

- A) Harorat va namlikni nazorat qilish
- B) Faqat yorug'likdan himoya qilish
- C) Qadoqlashni chiroyli qilish
- D) Saqlash joyini kengaytirish

30-AMALIY MASHG'ULOT

Mavzu: Ekstraktlarni ajratib olish usullari

Mashg'ulot maqsadi: Ushbu amaliy mashg'ulotning asosiy maqsadi ekstraktlarni ajratib olish usullari bo'yicha bilim va ko'nikmalarni o'rganishdir. Ekstraksiya jarayonlari tabiiy moddalardan foydali komponentlarni ajratib olishda keng qo'llaniladi, masalan, o'simliklar, mikroorganizmlar, hayvonlar va boshqa tabiiy manbalardan. Mashg'ulot davomida talabalar ekstraksiya jarayonlarini nazariy va amaliy jihatdan o'rganadilar hamda turli usullarni qo'llash orqali mahsulotni ajratish va tozalashni amalga oshiradilar.

Mashg'ulot shakli: «Veterinariya farmatsevtikasi» ta'lim yo'nalishi talabalari uchun amaliy mashg'uloti.

Mashg'ulot uslubi: Suhbat va savol-javob, slydlar asosida taqdimot va muhokama

Mavzuning ahamiyati: Ekstraksiya — bu tabiiy moddalardan yoki materiallardan foydali komponentlarni ajratib olish jarayoni bo'lib, biotexnologiyada, farmatsevtika, oziq-ovqat sanoatida va boshqa sohalarda muhim o'rin tutadi. Turli moddalarni to'g'ri ajratib olish uchun aniq metodlarni bilish va ulardan samarali foydalanish zarur. Ekstraksiya jarayoni yordamida o'simliklardan, mikroorganizmlardan va boshqa tabiiy resurslardan foydali biokomponentlar, masalan, alkaloidlar, vitaminlar, gormonlar va boshqa bioaktiv moddalar olinadi.

Zarur jihozlar va kerakli asbob-uskunalar

1. Laboratoriya shisha idishlari (kolbalar, flakonlar, saqlash idishlari)

2. Mikserlar va gomogenizatorlar: Ushbu asboblarni materiallarni yaxshilab aralashtirish va qattiq moddalardan suyuq moddalarga ajratish uchun zarur.

3. Sentrifuga: Taqsimlangan fazalarni ajratish uchun foydalaniladi.

4. Rotary evaporator (rotavap): Suyuq fazani distillash va konsentratsiyalash jarayonlarida ishlatiladi.

5. Havo qizdirgichlari: Ekstraksiya jarayonlarini tezlashtirish uchun zarur.

6. **Ximiyoviy moddalar:** Solventlar (etanol, metanol, eter va boshqalar), suyultiruvchi moddalar.

7. **pH metrlari va refraktometrlar:** Suv va boshqa eritmalarining pH darajasini va konsentratsiyasini o'lchash uchun ishlatiladi.

8. **Gosset yoki sathni o'lchov asboblari:** Ajratilgan fazaning miqdorini aniqlash.

Nazariy qism

Ekstraksiya — bu kimyoviy moddalar yoki biologik faol birikmalarni o'simlik yoki boshqa tabiiy manbadan ajratib olish jarayoni. Bu jarayon ikki asosiy bosqichni o'z ichiga oladi:

1. **Xom ashyoni tayyorlash:** Qattiq moddalardan tarkibidagi foydali moddalarning ajralishini ta'minlash uchun material (masalan, o'simlik yoki mikroorganizmlar) maydalanadi, maydalash yoki maydalashdan keyin eritmalar bilan aralashtiriladi.

2. **Ajratish jarayoni:** Bu bosqichda moddalar o'zaro kimyoviy va fizikaviy ta'sirlar yordamida ajratib olinadi. Ajratish uchun solventlar ishlatiladi va qattiq moddalardan suyuqlarga ko'chiriladi. Ajratilgan moddalar keyinchalik filtrlanadi yoki boshqa usullar yordamida tozalanadi.

Ekstraksiya usullari:

1. **Suvda ekstraksiya:** O'simlik materiallaridan biologik faol moddalarning ajratilishini amalga oshiradi. Suv, ko'pincha erituvchi sifatida ishlatiladi. Bu usulda haroratni va pH darajasini boshqarish muhimdir.

2. **Etil spirti va boshqa organik solventlar yordamida ekstraksiya:** Ko'proq o'simliklardan alkaloidlar, flavonoidlar va boshqa organik moddalarni ajratib olishda qo'llaniladi. Solventlar o'simliklarning o'ziga xos xususiyatlariga qarab tanlanadi.

3. **Ultrasonik ekstraksiya:** Bu usulda yuqori chastotali tovush to'lqinlari yordamida o'simlik yoki boshqa manbadan bioaktiv moddalar ajratiladi. Bu usulda yuqori tezlikda aralashtirish va yuqori energiya bilan erituvchidan foydalanish mumkin.

4. **Suhbat va pishirish orqali ekstraksiya:** Bu usulda erituvchi bilan aralashtirish va yuqori haroratda pishirish orqali moddalarning o'zaro ta'sirini ta'minlaydi.

5. **Sentrifugatsiya va filtratsiya:** Ajratilgan moddalarning sathi bilan ishlashda qo'llaniladigan usullar. Bu usulda suyuq va qattiq fazalar ajratiladi.

6. **Ekstraksiya jarayonidagi muhim omillar:**

7. **Erituvchi sifatini tanlash:** O'simlik yoki boshqa materialdan kerakli moddalarni ajratib olish uchun erituvchining kimyoviy va fizikaviy xususiyatlari muhim ahamiyatga ega.

8. **Harorat va pH:** Harorat va pH darajasi ekstraksiya jarayonining samaradorligini oshiradi. Ba'zi moddalar faqat ma'lum harorat va pH sharoitida ajratilishi mumkin.

9. **Vaqt:** Ekstraksiya jarayonining davomiyligi ham muhim rol o'ynaydi. Juda uzoq vaqt davomida ekstraksiya qilishdan ko'ra, optimum vaqtni tanlash kerak.

Ishni bajarish tartibi

1. **Materiallarni tayyorlash** - O'simlik materiallari yoki boshqa manbalar (masalan, mikroorganizmlar) etarlicha maydalanadi, ularning o'lchami ekstraksiya jarayoniga ta'sir qilishi mumkin. Agar o'simliklardan ekstraksiya qilinayotgan bo'lsa, ular quritilib, maydalanadi.

2. **Erituvchini tanlash**-Ekstraksiya uchun erituvchi tanlanadi. Masalan, etanol yoki metanol o'simliklar va boshqa organik moddalardan alkaloidlar yoki flavonoidlar ajratishda ishlatiladi. Erituvchi o'simlik materiallari bilan aralashtiriladi.

3. **Ekstraksiya jarayonini boshlash**- Olingan material va erituvchi birgalikda bir necha soat davomida aralashtiriladi. Bu jarayonda harorat va vaqtni moslash kerak.

4. **Sentrifugatsiya yoki filtratsiya** - Ajratilgan suyuqlikdan qattiq moddalar filtrlanadi yoki sentrifuga yordamida ajratiladi. Filtrlangan eritma keyinchalik konsentratsiya qilinadi, masalan, rotavap yordamida.

5. Tozalash va ajratish ishlari = Ajratilgan moddaning tozaligi va ajratilish usullari, agar kerak bo'lsa, ular boshqa usullar (masalan, distillatsiya) bilan tozalanadi.

Solvent	Ajratiladigan moddalar	Xususiyatlar
EtOH (spirt)	Ajratiladigan moddalar: flavonoidlar, alkaloidlar	Yaxshi solvent, tez ajratish
Metanol	Ajratiladigan moddalar: terpenlar, alkaloidlar	Tez, ammo ba'zan toksik
H_2O (suyuq)	Ajratiladigan moddalar: oqsillar, ba'zi alkaloidlar	Engxavfsiz, ammokamroq moddalarni ajratadi
Eter	Ajratiladigan moddalar: yengil terpenlar, ko'pgina alkaloid moddalar	Yengil, tez ajratadi

6. Ma'lumotlarni tayyorlash

Ajratilgan asosiy moddalarni muvofiqidishlarga joylashtiriladivaker ajratilgan moddalarni ajratish.

7. Natijalarni tahlil qilish = Ajratilgan moddaning miqdori va sifatini aniqlash uchun laboratoriya uskunalaridan (masalan, spektrofotometri) foydalaniladi.

Nazorat savollari

1. Ekstraktlar nima va ularni ajratib olishdan maqsad nima?
2. Ekstraktlarni ajratib olishda ishlatiladigan asosiy usullarni sanab bering.
3. Maceratsiya va perkolatsiya usullarining o'zaro farqlarini tushuntiring.
4. Ekstraktlarni ajratishda erituvchi (solvent) tanlashda nimalarga e'tibor qaratiladi?
5. Qaysi omillar ekstraktlarning miqdori va sifatiga ta'sir ko'rsatadi?

Mavzu yuzasidan test savollari

1. Ekstraksiya jarayoni qanday maqsadda olib boriladi?
A) Eritmaning rangini o'zgartirish uchun
B) Faol moddalarni xom ashyodan eritmaga o'tkazish uchun

C) Erituvchini bug'lantirish uchun

D) Kimyoviy reaksiyalarni tezlashtirish uchun

2. Matseratsiya usuli qanday jarayonni anglatadi?

A) Xom ashyoni bosim ostida qaynatish

B) Xom ashyoni ma'lum vaqt davomida erituvchida ivitib qo'yish

C) Erituvchini bug'lantirish

D) Suyuqlikni filtdan o'tkazish

3. Perkolyatsiya usulida ekstraksiya qanday amalga oshiriladi?

A) Xom ashyo bosim ostida saqlanadi

B) Erituvchi xom ashyo orqali uzluksiz o'tkaziladi

C) Xom ashyo faqat sovuq suvda ivitiladi

D) Faqat bug' yordamida amalga oshiriladi

4. Sokslet apparatida ekstraksiya qanday amalga oshiriladi?

A) Sovuqda ivitish orqali

B) Issiq suv bug'i yordamida

C) Qayta-qayta kondensatsiyalanib tushayotgan erituvchi yordamida

D) Filtrlash yo'li bilan

5. Ekstrakt sifatiga eng katta ta'sir ko'rsatuvchi omil qaysi?

A) Idishning materiali

B) Xom ashyoning zarracha o'lchami va erituvchining xususiyatlari

C) Xona harorati

D) Filtr qalinligi

6. Erituvchi sifatida odatda qaysi moddalar qo'llaniladi?

A) Suv, spirt, efir

B) Neft, benzin, kerosin

C) Kislota va ishqorlar

D) Tuz eritmaları

7. Ekstraksiya jarayonida issiqlikni qo'llashning asosiy maqsadi nima?

A) Erituvchini tezroq bug'latish

B) Faol moddalarni tezroq eritmaga o'tkazish

C) Erituvchini dezinfeksiya qilish

D) Rangni o'zgartirish

8. "Diffuziya" tushunchasi ekstraksiyada nimani anglatadi?

A) Erituvchining bug'lanishi

B) Molekulalarning yuqori konsentratsiyadan past konsentratsiyaga o'tishi

C) Erituvchini qizdirish jarayoni

D) Erituvchining rangini o'zgartirish

9. Ekstraktlarni ajratishda erituvchini tanlashda qaysi xususiyat muhim?

A) Rangi va hidi

B) Faol moddalarni eritish qobiliyati

C) Narxi

D) Idishda saqlanishi

10. Ekstraksiya jarayonida xom ashyoning maydaligi qanday ahamiyatga ega?

A) Hech qanday ahamiyati yo'q

B) Maydalangan sari faol moddalar ko'proq ajraladi

C) Juda katta bo'lsa yaxshi ajraladi

D) Erituvchini kamaytiradi

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YHATI

1. X.M.Komilov va boshqalar. Biotexnologiya asoslari. Darslik. Toshkent, 2010 yil. - 498 bet
2. X.M.Kamilov, X.J.Қамбаров, Ф.Х.Тухтаев Фармацевтик биотехнология. Тошкент-2022 "IBN-SINO"-2022 1-Қисм - 259 bet
3. X.M.Kamilov, X.J.Қамбаров, Ф.Х.Тухтаев Фармацевтик биотехнология. Тошкент-2022 "IBN-SINO"-2022 2-Қисм - 255 bet
4. Techniques and methods of molecular biology -2023. 468/590
5. Samuel Oppong Bekoe, Mani Saravanan, Reimmel Kwame Adosraku and P K Ramkumar Veterinary Medicine and Pharmaceuticals Textbook. 2020 y. p.180.
6. Mirziyoyev Sh.M. Yangi O'zbekistonda erkin va farovon yashaylik. "Toshkent, "Tasvir" nashriyot uyi, 2021 yil. – 52 bet.
7. Mirziyoyev Sh.M. Insonparvarlik, ezgulik va bunyodkorlik-milliy g'oyamizning poydevoridir. Toshkent, "Tasvir" nashriyot uyi, 2021 yil. – 36 bet.
8. Mirziyoyev Sh.M. Yangi O'zbekiston taraqqiyot strategiyasi. Toshkent, "O'zbekiston" nashriyoti, 2022 yil. – 416 bet.
9. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 28-martdagi "Veterinariya va chorvachilik sohasida davlat boshqaruvi tizimini tubdan takomillashtirish chora-tadbirlari to'g'risida"gi PF-5696 son Farmoni.
10. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022-yil 31-martdagi "Veterinariya va chorvachilik sohasida kadrlar tayyorlash tizimini tubdan takomillashtirish to'g'risida"gi PQ-187-son qarori.
11. Farmatsevtik kimyo fanidan ma'lumotnoma, Q.A.Ubaydullaev va b. . Toshkent, «Extremum press», 2010 yil. - 614 bet
12. Allen L., Ansel H. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Dilevery Systems he 10th ed. Philadelphia-Baltimore-NY, 2013 year. P 794
13. G.Yu.Malikova., A.N.Maqsudova "Bilogik kimyo" Darslik. "Extremum Press" nashriyoti. Toshkent. 2011 yil. - 256 bet

14. Ibodov A.Yu., A.N.Yunushodjaev, Q.A.Ubaydullaev. Farmatsevtik kimyo.Darslik. Toshkent, «EFFECT-D», 2021 yil. Itom. - 585 bet
15. Ibodov A.Yu. , A.N.Yunushodjaev, Q.A.Ubaydullaev. Farmatsevtik kimyo. Darslik. Toshkent, «EFFECT-D», 2021 yil. II-tom.- 585 bet
16. Zairova H.T.“Fitopreparatlar texnologiyasi”. Darslik. “IBN-SINO”. Toshkent-2023.-233 b
17. O‘.Ahmedov, A.Ergashev va boshqalar “Dorivor o‘simliklar yetishtirish texnologiyasi va ekologiyasi”. Darslik. “Tafakkur-bo‘stoni”. Toshkent-2018.-224 b
18. Maxkamov S.M., Maxmudjonova K.S. Tayyor dori turlari texnologiyasi. Darslik. Toshkent. 2010.-367 b. “EXTREMUM PRESS”.

MUNDARIJA

KIRISH	3
1-AMALIY MASHG'ULOT	4
Mavzu: Biotexnologik dori vositalarining turlari va ularning tasniflanishi	4
Nazorat uchun savollar	6
Test savollari:.....	6
2-AMALIY MASHG'ULOT	9
Mavzu: Mikroorganizmlarni steril sharoitda ekish texnikasi	9
Nazorat uchun savollar:	10
Test savollari:.....	11
3-AMALIY MASHG'ULOT	13
Mavzu: Fermentlar faolligini aniqlash usullari	13
Nazorat uchun savollar:	15
Test savollari.....	15
4-AMALIY MASHG'ULOT	17
Mavzu: Fermentlarni immobilashning fizik-kimyoviy usullari.....	17
Nazorat uchun savollar:	19
5-AMALIY MASHG'ULOT	22
Mavzu: Bioreaktorlar bilan tanishuv va ishlash qoidalari	22
Nazorat uchun savollar:	24
Test savollari.....	25
6-AMALIY MASHG'ULOT	27
Mavzu: Rekombinant DNK usulida oqsil sintezini modelashtirish.....	27
Nazorat uchun savollar:	29
Test savollari.....	30
7-AMALIY MASHG'ULOT	32
Mavzu: Mikrobiologik xomashyoni tanlash va ishlov berish	32
Nazorat uchun savollar:	33
8-AMALIY MASHG'ULOT	34
Mavzu: Antibiotiklar ishlab chiqarish uchun shtammlar bilan ishlash	34
Nazorat uchun savollar	36
Test savollari.....	36
9-AMALIY MASHG'ULOT	39
Mavzu: Monoklonal antitanalarni ajratish va tozalash	39
Nazorat uchun savollar	41
Mavzu yuzasidan test savollari.....	41
10-AMALIY MASHG'ULOT	44

Mavzu: Vaksina namunalarini tayyorlash va sifatini baholash.....	41
Nazorat uchun savollar	47
Mavzu yuzasidan test savollari.....	47
11-AMALIY MASHG'ULOT	50
Mavzu: PCR (polimeraza zanjir reaksiyasi) asoslarini amalda bajarish	50
Nazorat uchun savollar	53
Nazorat uchun test savollari.....	53
12-AMALIY MASHG'ULOT	55
Mavzu: GMO organizmlarni identifikatsiyalash usullari.....	55
Nazorat uchun savollar	57
Mavzu yuzasidan test savollari.....	57
13-AMALIY MASHG'ULOT	60
Mavzu: Fermentativ reaksiyalarni o'rganish.....	60
Nazorat uchun savollar	62
Mavzu yuzasidan test savollari.....	62
14-AMALIY MASHG'ULOT	65
Mavzu: Biotexnologik dori vositalarining sterilligi va apirogenligini tekshirish	65
Nazorat uchun savollar	69
Mavzu yuzasidan test savollari.....	69
15-AMALIY MASHG'ULOT	71
Mavzu: Gen muhandisligida plazmidlar bilan ishlash	71
Nazorat uchun savollar	74
Mavzu yuzasidan test savollari.....	74
16-AMALIY MASHG'ULOT	77
Mavzu: Biotexnologik mahsulotlar sifat nazorati amaliyoti.....	77
Nazorat uchun savollar	81
Mavzu yuzasidan test savollari.....	81
17-AMALIY MASHG'ULOT	84
Mavzu: Immunoferment analiz (ELISA) usulini bajarish.....	84
18-AMALIY MASHG'ULOT	90
Mavzu: Hujayra kulturalarini yetishtirish va saqlash texnologiyasi.....	90
Nazorat uchun savollar	92
Mavzu yuzasidan test savollari.....	93
19-AMALIY MASHG'ULOT	95
Mavzu: Biotexnologik jarayonlarda PH va haroratning ta'sirini o'rganish	95
Nazorat savollari	97

Mavzu yuzasidan test savollari.....	98
Mavzu: Fermentlar kinetikasini o'lehash va grafik talqini	100
Nazorat savollari.....	102
Mavzu yuzasidan test savollari.....	103
21-AMALIY MASHG'ULOT	105
Mavzu: Sut kislotali bakteriyalarni biotexnologik jihatdan o'rganish	105
Nazorat savollari.....	107
Mavzu yuzasidan test savollari.....	107
22-AMALIY MASHG'ULOT	110
Mavzu: Antigen va antitana reaksiyalarini amalda ko'rsatish	110
Nazorat savollari.....	112
Mavzu yuzasidan test savollari.....	112
23-AMALIY MASHG'ULOT	114
Mavzu: Biotexnologik dori vositalarining barqarorligini aniqlash.....	114
Nazorat savollari.....	115
Mavzu yuzasidan test savollari.....	115
24-AMALIY MASHG'ULOT	118
Mavzu: Biotexnologik preparatlarda oqsil miqdorini aniqlash (Lowry yoki Bradford usuli).....	118
Nazorat savollari:.....	121
Mavzu yuzasidan test savollari.....	121
25-AMALIY MASHG'ULOT	124
Mavzu: Antibiotik faoliyatini aniqlash: zona ingubatsiyasi usuli.....	124
Nazorat uchun savollar	126
Mavzu yuzasidan test savollari.....	126
26-AMALIY MASHG'ULOT	129
Mavzu: Oqsillarni elektroforez usulida ajratish (SDS-PAGE).....	129
Nazorat savollar:.....	131
Mavzu yuzasidan test savollari.....	131
27-AMALIY MASHG'ULOT	133
Mavzu: Biotexnologiyada ishlatiladigan uskunalar bilan ishlash.....	133
Nazorat savollari.....	135
Mavzu yuzasidan test savollari.....	136
28-AMALIY MASHG'ULOT	138
Mavzu: Transgen hayvonlar haqida tahlil	138
Nazorat savollar	139
Mavzu yuzasidan test savollari.....	140
29-AMALIY MASHG'ULOT	142

Mavzu: Biotexnologik mahsulotlarning saqlash sharoitlarini o'rganish.....	12
Nazorat savollari.....	13
30-AMALIY MASHG'ULOT	14
Mavzu: Ekstraktlarni ajratib olish usullari.....	15
Nazorat savollari.....	16
Mavzu yuzasidan test savollari.....	18
FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YHATI.....	153