

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ  
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

**ОЛИЙ ТАЪЛИМ ТИЗИМИ ПЕДАГОГ ВА РАЎБАР КАДРЛАРИНИ  
ҚАЙТА ТАЙЁРЛАШ ВА УЛАРНИНГ МАЛАКАСИНИ ОШИРИШНИ  
ТАШКИЛ ЭТИШ БОШ ИЛМИЙ - МЕТОДИК МАРКАЗИ**

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ПЕДАГОГ  
КАДРЛАРНИ ҚАЙТА ТАЙЁРЛАШ ВА УЛАРНИНГ МАЛАКАСИНИ  
ОШИРИШ ТАРМОҚ (МИНТАҚАВИЙ) МАРКАЗИ**

**“БИОЛОГИЯ”  
йўналиши**

**“БИОИНФОРМАТИКА”  
модули бўйича**

**Ў Қ У В – У С Л У Б И Й М А Ж М У А**

**Тошкент – 2016**

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ  
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

**ОЛИЙ ТАЪЛИМ ТИЗИМИ ПЕДАГОГ ВА РАЎБАР КАДРЛАРИНИ  
ҚАЙТА ТАЙЁРЛАШ ВА УЛАРНИНГ МАЛАКАСИНИ ОШИРИШНИ  
ТАШКИЛ ЭТИШ БОШ ИЛМИЙ - МЕТОДИК МАРКАЗИ**

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ПЕДАГОГ  
КАДРЛАРНИ ҚАЙТА ТАЙЁРЛАШ ВА УЛАРНИНГ МАЛАКАСИНИ  
ОШИРИШ ТАРМОҚ (МИНТАҚАВИЙ) МАРКАЗИ**

**“БИОИНФОРМАТИКА”**

**модули бўйича**

**Ў Қ У В – У С Л У Б И Й М А Ж М У А**

**Тошкент 2016**

**Мазкур ўқув-услугий мажмуа Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг 2016 йил 6 апрелидаги 137-сонли буйруғи билан тасдиқланган ўқув режа ва дастур асосида тайёрланди.**

**Тузувчи:**

ЎзМУ, б.ф.н. катта илмий  
ходим **Ф.Н.Кушанов**

**Такризчи:**

**Byoung Ryong Jeong**  
Professor and Doctor of  
Philosophy in Horticulture  
Department of Horticulture  
Gyeongsang National University  
**Republic of Korea**

*Ўқув -услугий мажмуа ЎзМУнинг Университет Кенгашининг 2016 йил  
7-сентябрдаги 1-сонли қарори билан наирга тавсия қилинган.*

## МУНДАРИЖА

I. ИШЧИ ДАСТУР.....	4
II. МОДУЛНИ ЎҚИТИШДА ФОЙДАЛАНИЛАДИГАН ИНТРЕФАОЛ ТАЪЛИМ МЕТОДЛАРИ.....	9
III. НАЗАРИЙ МАТЕРИАЛЛАР.....	13
IV. АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАР МАТЕРИАЛЛАРИ.....	53
V. КЕЙСЛАР БАНКИ.....	63
VI. МУСТАҚИЛ ТАЪЛИМ МАВЗУЛАРИ.....	65
VII. ГЛОССАРИЙ.....	66
VIII. АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ.....	71

## I. ИШЧИ ДАСТУР

### КИРИШ

Мазкур дастур ривожланган хорижий давлатларнинг олий таълим соҳасида эришган ютуқлари ҳамда орттирган тажрибалари асосида “Биологияё” қайта тайёрлаш ва малака ошириш йўналиши учун тайёрланган намунавий ўқув режа ҳамда дастур мазмунидан келиб чиққан ҳолда тузилган бўлиб, у замонавий талаблар асосида қайта тайёрлаш ва малака ошириш жараёнларининг мазмунини такомиллаштириш ҳамда олий таълим муассасалари педагог кадрларининг касбий компетентлигини мунтазам ошириб боришни мақсад қилади.

Жамият тараққиёти нафақат мамлакат иқтисодий салоҳиятининг юксаклиги билан, балки бу салоҳият ҳар бир инсоннинг камол топиши ва уйғун ривожланишига қанчалик йўналтирилганлиги, инновацияларни тадбиқ этилганлиги билан ҳам ўлчанади. Демак, таълим тизими самарадорлигини ошириш, педагогларни замонавий билим ҳамда амалий кўникма ва малакалар билан қуроллантириш, чет эл илғор тажрибаларини ўрганиш ва таълим амалиётига тадбиқ этиш бугунги куннинг долзарб вазифасидир. “Биоинформатика” модули айнан мана шу йўналишдаги масалаларни ҳал этишга қаратилган.

Ушбу дастурда турли организмлар геномларининг, хусусан, одам, ҳайвон, микроорганизмлар ҳамда ўсимликлар геномлари структурасининг шиддат билан секвенирланиши (ДНК кетма-кетликларининг аниқланиши) натижасида юзага келган янги, замонавий биоинформатика фани, унинг аҳамияти, долзарблиги, масад ва вазифалари ҳақида тушунчалар баён этилган.

### **Модулнинг мақсади ва вазифалари**

**Биоинформатика модулининг мақсади ва вазифалари:**

- педагог кадрларни қайта тайёрлаш ва малака ошириш курси тингловчиларида молекуляр биология, биохимия, генетика, вирусология ва шунингдек биополимерлар тузилишини башорат қилиш имконини берувчи геномика ва протеомика маълумотлари компьютер таҳлилларининг алгоритмларини ва дастурларини ишлаб чиқиш бўйича кўп сонли тадқиқотлар натижаларини ҳисоблаш методологияси ёрдамида таҳлил қилишга йўналтирилган фан – биоинформатика ҳақида тасаввурни шакллантиришдан иборат. Шунингдек тингловчиларга дунё олимлари томонидан тирик организмлар геномларининг секвенирланиши натижасида генларнинг структура ва функцияларини ўрганиш бўйича олиб борилаётган биоинформатик илмий тадқиқотлар, биоинформатика методларидан фойдаланиб яратилаётган янги биотехнологик усуллар ва уларнинг қонуниятлари ҳамда принциплари тўғрисида билим бериш кўзда тутилади.

Фан қишлоқ ва халқ хўжалиги амалиётларда генетика муаммоларини ечишда қўлланиладиган биоинформатика усуллари ва ютуқларини ёритиб беради;

### **Модул бўйича тингловчиларнинг билими, кўникмаси, малакаси ва компетенцияларига қўйиладиган талаблар**

“Биоинформатика” курсини ўзлаштириш жараёнида амалга ошириладиган масалалар доирасида:

#### **Тингловчи:**

- биологик терминлар ва уларнинг инглизча номланиши;
- амалий математика, ахборот технологиялари ва дастурлаш асослари;
- нуклеин кислота ва оқсиллар кимёси ҳамда физикаси;
- прокариот ва эукариот организмлар ген элементларининг асосий тузилиши, улар геноми ўртасидаги фарқлар ҳақида **билимларга эга бўлиши**;

#### **Тингловчи:**

- биоинформатика соҳасидаги муаммолар, энг сўнгги ютуқлар ва янги ишланмалар;
- биоинформатика асоси ва дастурлашнинг турли усуллари ҳамда соҳадаги муаммоларни бартараф этиш учун қўлланиладиган янги дастурлар;
- янги авлод секвенирлаш технологиялари иш принциплари бўйича **кўникма ва малакаларини эгаллаши**;

#### **Тингловчи:**

- геномлар, оқсиллар ва бошқа биологик ахборотлар бўйича маълумотлар базасида жайлаштирилган ахборотлардан оқилона фойдалана олиш;
- олинган натижаларни экспериментал ва статистик таҳлил қила олиш;
- Мавжуд ихтисослаштирилган биоинформацион сайтларни модификация қила олиш ва янгиларини ярата олиш **компетенцияларни эгаллаши лозим**.

### **Модулни ташкил этиш ва ўтказиш бўйича тавсиялар**

“Биоинформатика” курси маъруза ва амалий машғулотлар шаклида олиб борилади.

Курсни ўқитиш жараёнида таълимнинг замонавий методлари, педагогик технологиялар ва ахборот-коммуникация технологиялари қўлланилиши назарда тутилган:

- маъруза дарсларида замонавий компьютер технологиялари ёрдамида презентацион ва электрон-дидактик технологиялардан;
- ўтказиладиган амалий машғулотларда техник воситалардан, экспресс-сўровлар, тест сўровлари, ақлий ҳужум, гуруҳли фикрлаш, кичик гуруҳлар билан ишлаш, коллоквиум ўтказиш, ва бошқа интерфаол таълим усуллари қўллаш назарда тутилади.

## **Модулнинг ўқув режадаги бошқа модуллар билан боғлиқлиги ва узвийлиги**

“Биоинформатика” фани биохимия, молекуляр биология, генетикадаги асосий билим ва тасаввурларга таяниб, молекуляр-биологик тадқиқотларда амалий математика, статистика ва информатика усулларидадан фойдаланади. Фан юзасидан тайёргарлик - биологик муҳим ахборотни олиш мақсадида биологик макромолекулалар тузилиши бўйича экспериментал маълумотларни таҳлил қилиш учун компьютер технологияларидан назарий ва амалий билим ва кўникмалар олиш имкониятини беради. Фан биологик объектлар билан боғлиқ бўлган математик алгоритмларни амалга оширади, физик-кимёвий биология, геномика ва протеомиканинг экспериментал ва ҳисоблаш маълумотларини қўллади. Шу боис тингловчилар уни тўлиқ ўзлаштиришлари учун тирик мавжудотларни ўрганувчи умумбиологик фанлар: ботаника, зоология, биокимё, физиология, биофизика, ирсият қонуниятларини, генетика, молекуляр генетика, микробиология шунингдек, организмларни атроф муҳит билан ўзаро муносабатларни ўрганувчи экология, тирик организмни ички ва ташқи тузилишини ўрганувчи анатомия ва морфология фанлари билан биргаликда табиий фанлар: кимё, физика, математика ва замонавий компьютер техникаси замонавий услублар ёрдамида организмларда содир бўладиган мураккаб жараёнларни умумлаштириш учун етарли билим ва кўникмаларга эга бўлиши талаб этилади.

## **Модулнинг олий таълимдаги ўрни**

Республикамизнинг иқтисодиёти фундаментал фанларнинг ривожланишига ва унинг ютуқларига ҳам боғлиқ. Ҳозирги замон биологиясининг кескин равишда ривожланувчи соҳаси бу геномика фанидир. Геномика соҳасини эса биоинформатика фанисиз тасаввур қилиб бўлмайди. Биоинформатика фани молекуляр биология, генетика, соғлиқни сақлаш, фармакология, биохимия ҳамда хужайра биологияси каби қишлоқ ва халқ хўжалиги соҳаларидаги муаммоларни ечишда муҳим аҳамият касб этади. Шу сабабли ҳам ушбу модулни ўзлаштириш орқали тингловчилар замонавий биоинформатика фанини амалда қўллаш ва генетика соҳасидаги мавжуд муаммоларни баҳолашга доир касбий компетентликка эга бўладилар.

## Модул бўйича соатлар тақсимоти

№	Модул мавзулари	Тингловчининг ўқув юкلامаси, соат				Мустақил таълим
		Ҳаммаси	Аудитория ўқув юкلامаси			
			Жами	жумладан		
				Назарий	Амалий машғулот	
1.	Кириш. Биоинформатиканинг асосий принциплари.	6	4	2	2	2
2.	Геномни таҳрирлаш технологиялари	6	4	2	2	2
<b>Жами:</b>		<b>12</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

### НАЗАРИЙ МАШҒУЛОТЛАР МАЗМУНИ

#### **1 - мавзу: Кириш. Биоинформатиканинг асосий принциплари.**

Биоинформатика курсига кириш. Биоинформатика тушунчаси ва унинг тарихи. Фан сифатида ривожланиши, мақсади ва вазифалари. Биоинформатика фанидаги ютуқлар.

#### **2 - мавзу: Геномни таҳрирлаш технологиялари.**

Геномни таҳрирлаш тизимларининг предмети, мақсад ва вазифаси. Геномни таҳрирлаш тизимларининг асосий йўналишлари. Трансгенез. Антисенс. Янги авлод технологиялари: Zinc Finger, TALEN, CRISPR.

### АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАР МАЗМУНИ

#### **1-амалий машғулот:**

##### **Геномларни карталатириш.**

Геномни карталатириш. ДНК маркерлари ва уларнинг геномни карталаштиришдаги аҳамияти. ДНК маркерларининг турлари. Генетик бирикканлик карталарини тузиш. Ассоциацион карталаштириш ва уларнинг турлари (LD – карталаштириш, QTL – карталаштириш, NAM – карталаштириш). Карталаштиришда ишлатиладиган биоинформатик дастурлар.

#### **2-амалий машғулот:**

##### **Маълумотлар базаси ва улардан фойдаланиш.**

Нуклеотид кетма-кетликлар маълумотлар базаси (EMBL, DDBJ, NCBI, UniGene, STACK, EMBL-SVA), геном маълумотлар базаси (Genomes Server, Proteome Analysis, Ensembl), биочип (microarray) маълумотлар базаси (GEO, ArrayExpress). Оқсил кетма-кетликлари маълумотлар базаси; аминокислота



кетма-кетликлари маълумотлар базаси (UniProtKB/Swiss-Prot, GOA, ENZYME) ва “иккиламчи” база (InterPro, PDB).

## ЎҚИТИШ ШАКЛЛАРИ

Мазкур модул бўйича қуйидаги ўқитиш шаклларидан фойдаланилади:

- маърузалар, амалий машғулотлар (маълумотлар ва технологияларни англаб олиш, ақлий қизиқишни ривожлантириш, назарий билимларни мустаҳкамлаш);

- давра суҳбатлари (кўрилаётган лойиҳа ечимлари бўйича таклиф бериш қобилиятини ошириш, эшитиш, идрок қилиш ва мантиқий хулосалар чиқариш);

- баҳс ва мунозаралар (лойиҳалар ечими бўйича далиллар ва асосли аргументларни тақдим қилиш, эшитиш ва муаммолар ечимини топиш қобилиятини ривожлантириш).

## БАҲОЛАШ МЕЗОНИ

№	Ўқув-топширик турлари	Максимал балл	Баҳолаш мезони		
		2,5	"аъло" 2,2-2,5	"яхши" 1,8-2,1	"ўрта" 1,4-1,7
1.	Тест-синов топшириқларини бажариш	0,5	0,4-0,5	0,34-0,44	0,28-0,3
2.	Ўқув-лойиҳа ишларини бажариш	1	0,9-1	0,73-0,83	0,56-0,7
3.	Мустақил иш топшириқларини бажариш	1	0,9-1	0,73-0,83	0,56-0,7

## II. МОДУЛНИ ЎҚИТИШДА ФОЙДАЛАНИЛАДИГАН ИНТРЕФАОЛ ТАЪЛИМ МЕТОДЛАРИ

### «Хулосалаш» (Резюме, Веер) методи

**Методнинг мақсади:** Бу метод мураккаб, кўптармоқли, мумкин қадар, муаммоли характеридаги мавзуларни ўрганишга қаратилган. Методнинг моҳияти шундан иборатки, бунда мавзунинг турли тармоқлари бўйича бир хил ахборот берилади ва айти пайтда, уларнинг ҳар бири алоҳида аспектларда муҳокама этилади. Масалан, муаммо ижобий ва салбий томонлари, афзаллик, фазилат ва камчиликлари, фойда ва зарарлари бўйича ўрганилади. Бу интерфаол метод танқидий, таҳлилий, аниқ мантиқий фикрлашни муваффақиятли ривожлантиришга ҳамда ўқувчиларнинг мустақил ғоялари, фикрларини ёзма ва оғзаки шаклда тизимли баён этиш, ҳимоя қилишга имконият яратади. “Хулосалаш” методидан маъруза машғулотларида индивидуал ва жуфтликлардаги иш шаклида, амалий ва семинар машғулотларида кичик гуруҳлардаги иш шаклида мавзу юзасидан билимларни мустаҳкамлаш, таҳлили қилиш ва таққослаш мақсадида фойдаланиш мумкин.

#### Методни амалга ошириш тартиби:



тренер-ўқитувчи иштирокчиларни 5-6 кишидан иборат кичик гуруҳларга ажратади;



тренинг мақсади, шартлари ва тартиби билан иштирокчиларни таништиргач, ҳар бир гуруҳга умумий муаммони таҳлил қилиниши зарур бўлган қисмлари туширилган таркатма материалларни



ҳар бир гуруҳ ўзига берилган муаммони атрофлича таҳлил қилиб, ўз мулоҳазаларини тавсия этилаётган схема бўйича таркатмага ёзма баён қилади;



навбатдаги босқичда барча гуруҳлар ўз тақдимотларини ўтказадилар. Шундан сўнг, тренер томонидан таҳлиллар умумлаштирилади, зарурий ахборотлар билан тўлдирилади ва мавзу яқунланади.

#### Намуна:

Нанозаррларнинг тирик организмларда қўлланилиши					
Одам организмида		Ҳайвон организмида		Ўсимлик организмида	
афзаллиги	камчилиги	афзаллиги	камчилиги	афзаллиги	камчилиги
<b>Хулоса:</b>					





## “Ассисмент” методи

**Методнинг мақсади:** мазкур метод таълим олувчиларнинг билим даражасини баҳолаш, назорат қилиш, ўзлаштириш кўрсаткичи ва амалий кўникмаларини текширишга йўналтирилган. Мазкур техника орқали таълим олувчиларнинг билиш фаолияти турли йўналишлар (тест, амалий кўникмалар, муаммоли вазиятлар машқи, қиёсий таҳлил, симптомларни аниқлаш) бўйича ташҳис қилинади ва баҳоланади.

### Методни амалга ошириш тартиби:

“Ассисмент” лардан маъруза машғулотларида тингловчиларнинг мавжуд билим даражасини ўрганишда, янги маълумотларни баён қилишда, семинар, амалий машғулотларда эса мавзу ёки маълумотларни ўзлаштириш даражасини баҳолаш, шунингдек, ўз-ўзини баҳолаш мақсадида индивидуал шаклда фойдаланиш тавсия этилади. Шунингдек, ўқитувчининг ижодий ёндашуви ҳамда ўқув мақсадларидан келиб чиқиб, ассесментга қўшимча топшириқларни киритиш мумкин.

**Намуна.** Ҳар бир катакдаги тўғри жавоб 5 балл ёки 1-5 балгача баҳоланиши мумкин.

	<b>Тест</b> <b>1. Амплификация нима?</b> А. РНК молекуласини полимераза ферменти ёрдамида синтези В. Генни (ДНК молекуласи ёки унинг фрагменти) изчиллик билан кўп мартабалаб нусхаланиши С. ДНК молекуласининг водород боғлар ёрдамида боғланиши Д. ДНК дан РНК синтези		<b>Қиёсий таҳлил</b> • Ампликон жараёнини таҳлил қилинг?
	<b>Тушунча таҳлили</b> • ДНК қисқармасини изоҳланг...		<b>Амалий кўникма</b> • ПЗР қўйиш учун керакли тажрибаларни кетма-кетлиги бўйича бажаринг?

## “Тушунчалар таҳлили” методи

**Методнинг мақсади:** мазкур метод тингловчилар ёки қатнашчиларни мавзу буйича таянч тушунчаларни ўзлаштириш даражасини аниқлаш, ўз билимларини мустақил равишда текшириш, баҳолаш, шунингдек, янги мавзу буйича дастлабки билимлар даражасини ташхис қилиш мақсадида қўлланилади. Методни амалга ошириш тартиби:

- иштирокчилар машғулот қоидалари билан таништирилади;
- тингловчиларга мавзуга ёки бобга тегишли бўлган сўзлар, тушунчалар номи туширилган тарқатмалар берилади (индивидуал ёки гуруҳли тартибда);
- тингловчилар мазкур тушунчалар қандай маъно англатиши, қачон, қандай ҳолатларда қўлланилиши ҳақида ёзма маълумот берадилар;
- белгиланган вақт якунига етгач ўқитувчи берилган тушунчаларнинг тўғри ва тўлиқ изоҳини ўқиб эшиттиради ёки слайд орқали намойиш этади;
- ҳар бир иштирокчи берилган тугри жавоблар билан ўзининг шахсий муносабатини таққослайди, фарқларини аниқлайди ва ўз билим даражасини

**Намуна:** “Модулдаги таянч тушунчалар таҳлили”

Тушунчалар	Сизнингча бу тушунча қандай маънони англатади?	Қўшимча маълумот
Biosensor	Биологик елиб чиқишга эга бўлган ва оптик ёки электрик ўзгартиришга олиб келувчи детектордан ташкил топган қурилма.	
Surfactant	Амфифил модда бўлиб, юзадан суюқлик тортилишини камайтиради.	
Phospholipid	Манфий зарядланган фосфат гуруҳини ўзида сақловчи липид.	
Hydrogel	Сувдан иборат полимер занжир.	
Kevlar	Ароматик полиамидлардан ташкил топган жудаям мустаҳкам толаларнинг бир тури	
Kinesin	Модда солинган микротрубкалар бўйлаб ҳаракатланувчи оксиллар синфи.	
Lab-on-a-chip	Жудаям кам ҳажмдаги суюқлик намуналарини (бир неча пиколитр	

	ҳажмли) текширувчи асбоб.	
--	---------------------------	--

**Изоҳ:** Иккинчи устунчага қатнашчилар томонидан фикр билдирилади. Мазкур тушунчалар ҳақида қўшимча маълумот глоссарийда келтирилган.

**Намуна:** Биоинформатика тушунчаси ва унинг тарихи. Фан сифатида ривожланиши



### III. НАЗАРИЙ МАТЕРИАЛЛАР

#### 1-мавзу: Кириш. Биоинформатиканинг асосий принциплари.

##### *Режа:*

- 1.1. *Биоинформатиканинг фан сифатида шаклланиш тарихи. Унинг предмети, вазифалари ва объектлари.*
- 1.2. *Замонавий биологик тадқиқотларда биоинформатиканинг аҳамияти.*
- 1.3. *Биоинформатика ривожланиш бочқичлари ва ютуқлари.*

**Таянч иборалар:** *биоинформатика, секвенирлаш, геномика, протеомика, ДНК ва оқсил кетма-кетликлари.*

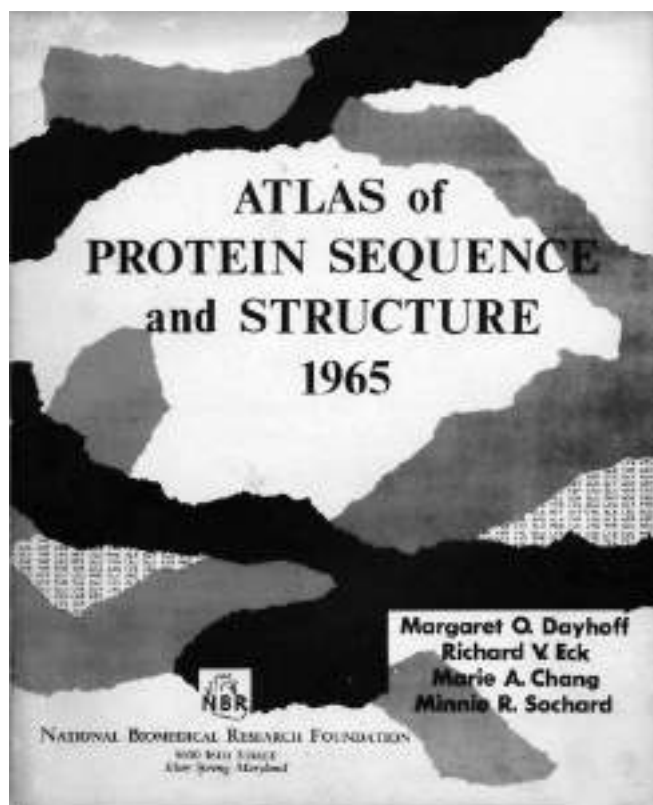
#### **1.1.Биоинформатиканинг фан сифатида шаклланиш тарихи. Унинг предмети, вазифалари ва объектлари.**

Информатика фанининг XX асрнинг иккинчи ярмида пайдо бўлган даврдан бошлаб физика-математика, техника, гуманитар ва бошқа фанларга ҳам тадбиқ қилиниши ҳамда улар билан ҳамкорликда ишлаши тобора кенгайиб бормоқда. Ҳозирги кунда информатика фани усулларини четлаб ўтадиган бирон-бир фан соҳасини топиш мушкул. Табиий фанлар ҳам бундан мустасно эмас.

Ўтган асрнинг 60-йиллар охири 70-йиллар бошларида биологияда ЭХМ (электрон ҳисоблаш машиналари) фаол қўлланила бошланди: шу билан биргаликда уларнинг хотиралари ва операцион тезликлари ошди ва ўлчамлари кичрайтирилди. Шу билан биргаликда биология соҳасида информацион таҳлилларни талаб этувчи катта миқдордаги экспериментал маълумотлар тўпланиб қолди. Бунга мисол қилиб бир қанча давлат олимлари ҳамкорлигида 2003 йилдаёқ одам геномининг севенирланишини келтириш мумкин.

Шундай қилиб XXI аср бошларига келиб биоинформатика соҳаси жадал суръатда ривожлана бошлади. Бу эса ўз навбатида биологик тадқиқотлар бўйича олинган маълумотларнинг шу қадар кўпайиб кетганлиги ва бунда ҳар бир омилнинг эслаб қолиниши ва таҳлил қилинишида инсон имкониятлари

чегараланиб қолганлиги ҳамда тобора кўпайиб бораётган ахборот ҳажмини сақлаш зарурияти туғилганлиги билан боғланади. Илк кетма-кетликлари аниқланган бир неча юз оқсиллар ҳақида маълумотлар китоб-атлас шаклида нашр қилинганган эди (1-расм). 70 йиллар бошларига келиб аниқланган кетма-кетликлар миқдори шу қадар кўпайдики, уларнинг ҳажми туфайли бу маълумотларни китоб шаклида нашр қилишнинг умуман иложи йўқ эди. Инсон мияси бундай ахборотларни таҳлил қила олмаслиги ва кетма-кетликларни таққослаш учун махсус дастурлар керак бўла бошлади.



*1-расм. Оқсил кетма-кетликлари ва уларнинг тузлиши бўйича атлас-китоб*

90-йилларда геномика фани пайдо бўла бошлади. Ҳозирги кунга келиб бир қанча организмлар, жумладан одам, сичқон, товуқ, қурбақа, бир қанча балиқ турлари, чувалчанглар, юзлаб вируслар ва бактериялар ҳамда юзлаб ўсимлик турларининг геном кетма-кетликлари аниқланди.<sup>1</sup> Бактерия геномининг ўқилиши – бу 2-3 тадқиқотчидан ташкил топган гуруҳнинг вақт ҳисобида тахминан 1 йилдан кам муддатга тўғри келадиган вазифасидир. Одам геноми қарийб 3 млрд.га тенг харфлардан иборат бўлиб бу эса 15000

<sup>1</sup> Леск А.М. Введение в биоинформатику /Introduction to Bioinformatics / пер. с англ. под ред. А.А.Миронова, В. К. Швядаса. - М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2009. - 318

китоб томларига тўғри келади.<sup>1</sup> Уни “ўқиб чиқиш” эса биологлар учун Менделеевнинг химиклар учун яратилган даврийлик қонунини очиш билан тенглаштирилади.

Шу боисдан ҳам бундай ҳажмдаги биологик маълумотларни таҳлил қилишда компьютер технологиясидан фойдаланила бошланди. Ген кетма-кетликларини тенглаштириш бўйича биринчи алгоритм 1970 йилда яратилди. Компьютерлар ахборотларни виртуал маълумотлар базасида сақлаш ва улар устида юқори тезликда операциялар ўтказиш имконини берди. Биоинформатика ҳам бошқа замонавий фанлар сингари бир қанча фанлар, яъни молекуляр биология, генетика, математика ва компьютер технологиялари фанлари бирлашуви асосида вужудга келди. Унинг асосий вазифаси бу биологик молекулалар, энг аввало нуклеин кислоталар ва оқсиллар структура ва функциялари бўйича маълумотларни таҳлил қилиш ва тизимлаштириш учун ҳисоблаш алгоритмларини ишлаб чиқишдир.

ДНК нуклеотид кетма-кетликларини секвенирлашнинг жадал усули ишлаб чиқилгандан сўнг маълумотлар базасида тўпланаётган генетик ахборотлар ҳажми юқори тезлик билан орта бошлади. Информатика, лингвистика ва информация назарияси ютуқлари генетик матнларни таҳлил қилиш имкониятларини очиб берди. Биоинформатиканинг бошқа фан соҳалари билан ўзаро боғлиқ ҳолдаги ривожланиши организм ва хужайрада юз бераётган биологик жараёнларни тушунишнинг янги даражаси шакллантиришга имкон беради.

Агарда биринчи шахсий компьютер 1981 йилда ва интернет (World Wide Web) – 1991 йилда, яъни яқиндагина яратилганлиги ҳисобга олинадиган бўлса, биоинформатика жадаллик билан ривожланаётганига гувоҳ бўлиш мумкин.<sup>2</sup> Биоинформатиканинг асосий принципларидан бири бу дунё олимлари

---

<sup>1</sup> Леск А.М. Введение в биоинформатику /Introduction to Bioinformatics / пер. с англ. под ред. А.А.Миронова, В. К. Швьадаса. - М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2009. - 318

<sup>2</sup> Сетубал Ж., Мейданис Ж. Введение в вычислительную молекулярную биологию / Introduction to Computational Molecular Biology / пер. с англ. А. А. Чумичкина; под ред. А. А. Миронова. - М. ; Ижевск : Регуляр. и хаот. динамика: НИЦ "Регулярная и хаотическая динамика", Ин-т компьютер. исслед., 2007. - 420 с.



томонидан олиб борилаётган тадқиқот натижаларини бирлаштирувчи ягона дунёвий ахборот маконлари принциpidир.

Биоинформатиканинг яралиш тарихи 13 асрларга бориб тақалади. Математика тарихига Фибоначчи (Fibonacci) номи билан кириб келган ёш италян Пизалик Леонардо (Leonardo of Pisa) биологик жараённинг биринчи математик моделини тузган ҳолда куёнларнинг кўпайиши тўғрисидаги масалани тавсифлаб берган. XX асрнинг 20 йилларига келиб эса яна бир италян олими Вито Вольтерра (Vito Volterra) “йиртқич-ўлжа” кўринишидаги икки биологик турнинг ўзаро ҳаракати моделини яратди. 40 йиллар охирида биологияга физик ва математиклар кириб кела бошлади. Биологиянинг замонавия тарихи 1953 йилдан, америка олимлари Жеймс Уотсон (James Watson) ҳамда Фрэнсис Крик (Francis Crick) томонидан ДНК нинг кўш спираллиги кашф қилинган даврдан бошланди.

Соф функционал тилида, барча ҳисоб-функцияси қўнғироқлар сифатида ифода этилади. Ҳақиқатдан ҳам соф тилда фақат параметрларини фаолият, ҳатто ҳар қандай ўзгарувчан топшириқлари мавжуд эмас. Лисп Унинг номи "рўйхатида ишлаш тилида," у суянган маълумотлар таркибини қандай мос ёзувлар учун фойдаланиладиган қисқартириш орқага 1958 чўзилган, эрта функтсионал дастурлаш тили эди.

Лисп 1960 йилда электрон мия доминант тилига айланди ва ҳали АИ тадқиқот ва амалий дастурлар муҳим аҳамият касб этади. Улардан энг аппарат платформалари деб ғойиб бўлди ва оператсион тизимлари кўпроқ 1980 йилда стандартлаштирилган бўлиб, гарчи тили, кўп дастурлар ва лаҳжаларга унинг эрта бошланиши сезиларли даражада ривожланди ва туғиб берди.

Тўлиқ объектга йўналтирилган (куйида қаранг) компонент жумладан бир неча йирик Лаҳжалари ва жуда кўп кенгайтмалари, ғояларни ўзида мужассам этиб катта стандартлаштириш ҳаракат, 1980 йилда амалга оширилган эди. Бу ҳаракат энди-доминант Соммон Лиспга олиб келди. “Узоқ тарихи ва кенг жорий фойдаланиш билан икки муҳим лаҳжалари схемаси ва Эмасс Лисп,

Эмасс муҳаррири учун буйруқ файли тили мавжуд”. Жорий ишлатилаётган бошқа функционал дастурлаш тиллари МЛ ва Ҳаскелл бўлади.<sup>1</sup>

Бугунги кунга қадар биоинформатикага турлича таърифлар берилди, бироқ асосан биоинформатика деганда турли биологик ахборотларни таҳлил қилишда компьютердан фойдаланиш тушунилади.<sup>2</sup> Шунингдек «биоинформатика» термини майдони ҳам жуда кенгайди ва биологик объектлар билан боғлиқ барча математик алгоритмлардан ҳамда биологик тадқиқотларда қўлланиладиган ахборот-коммуникация технологияларидан фойдаланади. Биоинформатикада информатикадаги сингари амалий математик, статистика ва бошқа аниқ фанлар усуллари қўлланилади. Биоинформатика шунингдек биокимё, биофизика, экология, генетика ва қатор табиий фанлар соҳаларида фойдаланилади.

Биоинформатика ўз ичига қуйидагиларни олади:

1) қиёсий геномикада компьютер таҳлилининг математик усуллари (геном биоинформатикаси);

2) оқсил структураларини башорат қилиш учун алгоритм ва дастурларни ишлаб чиқиш (структуравий биоинформатика);

3) мувофиқ ҳисоблаш услубиятлари стратегияси тадқиқоти ҳамда информатик мураккабликнинг биологик тизимлар томонидан умумий бошқарилиши.

Амалий маънода биоинформатика – бу биологлар манфаатлари учун хизмат қиладиган амалий фандир. Маълумотларни бирламчи таҳлил қилиш техник биоинформатика соҳасига тегишлидир. Олинган маълумотларни қаердадир сақлаш ва улардан фойдаланиш имкониятларини таъминлаш лозим. Биоинформатикларнинг энг мураккаб ва шунинг билан бирга энг қизиқарли бўлган машғулотлари бу геном ҳақидаги маълумотлар асосида аниқ тасдиқланган натижалар олиш, яъни масалан; А оқсили қандайдир функция

---

<sup>1</sup> Model M.L. Bioinformatics Programming Using Python: Practical Programming for Biological Data New York: O'Reilly Media, 2009. English.

<sup>2</sup> David W. Mount, Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001

бажаради, Б гени қайсидир жараёнда қатнашади ва ҳ.о.лар. бу эса биоинформатика фанининг амалий аҳамиятидан далолат беради.

Биоинформатика биология соҳасининг қуйидаги йўналишларида қўлланилади:

- геномика, транскриптомика ва протеомика;
- ривожланиш биологиясида компьютер моделлаштириш;
- ген тармоқларининг компьютер таҳлили;
- популяцион генетикада моделлаштириш.

Биоинформатика дори препаратларини лойиҳалаштириш муддатини 5-6 йилдан бир неча ойларга қисқартиш имкониятини яратиб фармакология соҳасига ҳам осонгина кириб борди. Шунингдек бу фан кўплаб бошқа тиббиётга ва биологияга оид фанлар билан интеграцияланди.

Бугунги кунда биоинформатиканинг қуйидаги бўлимлари мавжуд:

- умумий биоинформатика;
- клиник биоинформатика;
- структуравий геномика;
- функционал геномика;
- фармакогеномика;
- клиник протеомика;
- функционал протеомика;
- структуравий протеомика.

Биоинформатика усуллари ёрдамида катта ҳажмдаги биологик маълумотларни шунчаки таҳлил қилиш эмас, балки ҳар доим ҳам оддий тажрибаларда аниқлаб бўлмайдиган қонуниятларни исботлаш, генлар ва улар кодлайдиган оқсиллар функцияларини башорат қилиш, ҳужайрадаги генларнинг ўзаро таъсири моделини қуриш, дори препаратларини яратиш мумкин.

Phi-X 174 фагининг 1977 йилда секвенирланганидан буён кўплаб организмлар ДНК кетма-кетликлари аниқланди ва маълумотлар базасига

жойлаштирилди.<sup>1</sup> Бу маълумотлар оксил кетма-кетликларини ва регулятор участкаларни аниқлаш учун фойдаланилади. Маълумотлар микдорининг кўпайиши билан энди кетма-кетликларни қўлда (вручную) таҳлил қилиш мумкин бўлмай қолди. Ва ҳозирги кунда миллиардлаб жуфт нуклеотидлардан ташкил топган минглаб организмлар геномлари бўйича қидирувлар олиб бориш учун компьютер дастурларидан фойдаланилади.

Йирик геномлар учун ДНК фрагментларини йиғиш етарли даражада қийин вазифалардан ҳисобланади. Бу усул ҳозирда қарийб барча геномлар учун қўлланилади ва геномларни йиғиш алгоритмлари биоинформатика соҳасида бугунги куннинг долзарб муаммоларидан бири саналади. Геномда генларни ва регулятор элементларни автоматик тарзда қидириш генетик кетма-кетликларга компьютер таҳлилини қўллашда яна бир мисол бўла олади.

Геномика контекстида анотация – бу ДНК кетма-кетлигида генларни ва бошқа объектларни маркировкалаш (нишонлаш) жараёнидир. Геномлар аннотации биринчи дастурий тизими Оуэн Уайт (Owen White) томонидан 1955 йилдаёқ яратилган эди.

Эволюцион биология турларнинг келиб чиқиш ва пайдо бўлишини, уларнинг даврлар бўйича ривожланишини ўрганади. Информатика эволюцияни ўрганувчи биологларга бир неча жиҳатларда ёрдам беради:

- 1) барча ДНКдаги ўзгаришларни ўрганган ҳолда кўп сонли организмлар эволюцияларини тадқиқ қилишда;
- 2) янада комплекс эволюцион ҳодисаларни ўрганиш имконини берувчи геномларни бир-бирига таққослашда;
- 3) популяциялар компьютер моделларини куришда;
- 4) кўп миқдордаги турлар ҳақида маълумотни ўз ичига олувчи нашрларни кузатиб боришда.

Экотизимнинг биологик хилма-хилликлари гўёки бу бир томчи сув ёки бир ҳовуч тупроқ, ёки Ер сайёрасининг барча биосфераси каби барча тирик турлардан иборат бўлган маълум бир муҳитнинг тўла генетик йиғиндиси

---

<sup>1</sup> David W. Mount, *Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001

сифатида аниқланиши мумкин. Ихтисослаштирилган дастурий таъминот маҳсулотлари қидириш, визуализация қилиш, ахборотни таҳлил қилиш ва энг муҳими, натижаларни бошқа тадқиқотчилар билан бўлишда фойдаланилади.

Ҳозирги замон илмий биологик адабиётида биоинформатика билан биргаликда “ҳисоблаш биологияси” ибораси ҳам учраб туради. Ҳисоблаш биологияси – бу фан соҳаси эмас, балки биологик жараёнларни ўрганиш учун компьютерлардан фойдаланишга услубий ёндашув ҳисобланади. Гарчи “ҳисоблаш биологияси” кўпроқ алгоритмлар ва аниқ ҳисоблаш усулларини ишлаб чиқишлар билан шуғуллансада ҳозирча “биоинформатика” ва “ҳисоблаш биологияси” ибораларидан тез-тез маънодош (синоним) сўзлар сифатида фойдаланилмоқда. Ҳисоблаш биологиясида фойдаланиладиган барча усуллар яъни, масалан, гарчи биологик вазифалар билан боғлиқ бўлсада математик моделлаштириш – бу биоинформатика ҳисобланмайди.

Бундан ташқари математик биология ҳам мавжуд бўлиб, у ҳам биоинформатика сингари биологик муаммоларни ечишда ишлатилади, бироқ унда қўлланиладиган усуллар натижаси сон билан ифодаланмайди ва уларни амалга оширишда дастурий ва жиҳоз таъминоти талаб этилмайди.

Оқсиллар фазовий тузилмаларини башорат қилишда ишлатилладиган алгоритм ва дастурлар ишлаб чиқиш билан шуғулланувчи сруктуравий биоинформатика бошқаларидан ажралиб туради.<sup>1</sup> Шундай қилиб биоинформатика ҳам анатомия, ботаника, вирусология, микробиология, цитология, палеонтология, физиология ва бошқ. каби биология бўлимлари қаторига қўшилмоқда.

## **1.2. Замонавий биологик тадқиқотларда биоинформатиканинг аҳамияти.**

Биоинформатика биологиянинг илмий тажрибалари асосида олинган натижаларни таҳлил қилади. Олинган маълумотларни тадқиқотчи маълумотлар базасида мавжуд бўлган барча тўпламлар билан солиштиради.

---

<sup>1</sup> Xiong Z.J. // Essential Bioinformatics, Cambridge University Press 2006, 362 p.

Бордию, у ўзи аниқлаган кетма-кетликни маълумотлар базасидан топа олмаса бунда у бу маълумотни шу жойга киритиб қўяди ва бу билан базани янада бойитади. Маълумотлар базаси функцияларига сақлаш, тизимлаштириш, ахборотларни янгилаб туриш унга кириш ҳуқуқи билан таъминлашлар киради. Бу операциялар эса катта қудратлардаги компьютерларни талаб қилади.<sup>1</sup>

Шунингдек биологик мавзулар мажмуидаги илмий нашриётлар базалари ҳам мавжуд. Биология бўйича исталган илмий журналнинг барча сонларида чиқадиган ҳар бир мақола маълумотлар базасига жойлаштирилади изланувчи уни интернет тармоғи орқали осон топиб олиши учун қисқа таъриф бериб қўйилади (2-расм). Энг катта тиббий-биологик нашрлар on-line кутубхонаси PubMed сўнгги 50 йил мобайнида 16 млн. дан ортиқроқ мақолаларни ўз ичига олади.



2-расм. Тиббий-биологик нашрлар on-line кутубхонаси (PubMed)

Интеграл маълумотлар базаси ва энциклопедиялар конкрет ген, оксил, органик ва ҳ.о. ҳақидаги барча маълумотларни ўзида жамлаш каби муҳим

<sup>1</sup> Claverie D.J.-M., Notredame C. // Bioinformatics for Dummies, For Dummies 2006, 456 pages.

функцияларни амалга оширади. Улар катта миқдордаги бошқа маълумотлар базалари ахборотларини умумлаштиради ва уни ҳамisha янгилаб туради.

Ҳар қандай янгидан ўқилган геном ҳарфларнинг турли хил комбинацияларида такрорланувчи улкан кетма-кетликлар кўринишида намоён бўлади. Биоинформатика бундай хилма-хилликдаги матндан генларни ажратиб олиш имкониятини беради. Геномдан генни ажратиб олиш каби бундай операция геномни белгилаш деб аталади.

Барча генлар функцияларини тажрибалар асосида аниқлаш етарли даражада мураккабликни юзага келтиради. Бу ҳолатда биоинформатика функциялари аллақачон аниқланган генлар билан солиштириб кўришга таянган ҳолда уларни башорат қилишда кўмаклашади. Оқсил молекуласида биологик вазибаларнинг ҳар хил турларига жавоб берувчи участкалар мавжуд. Биоинформатика усуллари ёрдамида ушбу участкаларни аниқлаш конкрет бир оқсилнинг барча спектр функциясини очиб беради.

Оқсил структураларини тажрибалар асосида, яъни масалан оқсил молекулаларидан ташкил топган микроскопик кристалли рентген нурлари билан нурлантириш орқали аниқлаш мумкин. Бу эса етарли даражада узоқ ва қимматли жараён ҳисобланади. Айрим оқсиллар кристалл тузилмаларга эга бўлмаганлиги сабабли уларни таҳлил қилишнинг умуман иложи йўқ. Биоинформатика компьютер моделлаштириш ёрдамида ҳеч бўлмаганда оқсил структураси узоқроқ ўхшаш кетма-кетлиги маълум бўлган ҳолатларда оқсилнинг фазовий моделини ясашда ёрдам беради.

Биоинформатика методлари асосида олинган молекуланинг фазовий структурасини билган ҳолда унинг қандай ишлашини ва унинг ишлашига қандай таъсир эта олишни башорат қилиш мумкин.

Дори препаратларини фазода ҳар хил химийвий боғланишлар билан оқсил-нишонларнинг ўзаро таъсирини моделлаштириш асосида тайёрлаш мумкин. Бунда катта миқдори боғланишларни саралаш ва энг мақбуллари танлаб олиш керак бўлади.

Биология, кимё, физика, математика ҳамда информатика фанларини бирлаштириш биологик тизимни ҳар томонлама тавсифлаш имконини беради. Компьютер ресурсларидан фойдаланиш таҳлил жараёнини бир неча маротаба тезлаштиради ҳамда олиндиган натижаларнинг аниқлигини ва тезлигини оширади.<sup>1</sup>

Биоинформатика технологияларидан фойдаланиб қилинган биология соҳасидаги янги кашфиётлар тез суратда тиббиёт, фармакология, косметология, биотехнология, қишлоқ хўжалиги, экология ва бошқа соҳаларда жалб қилинади.

Биоинформатика мустақил равишда амалий аҳамиятга эга бўлган натижалар беради ва шунингдек биологиянинг турли соҳаларида ишлаш учун шароит билан таъминлайди.

Биоинформатика бўйича ишнинг катта қисми биологик ахборотни сақлаш ва уни таҳлил қилиш учун маълумотлар базасидан фойдаланиш технологиялари атрофига жамланган. Бундай маълумотлар базаси оммабоп ёки шахсий бўлиши мумкин. Уларга очик стандартлар орқали оммавий кириш ҳуқуқини олиш эса муҳим аҳамият касб этади. Гарчи маълумотлар базасидан фойдаланишга нисбатан бу усуллар анчагина кенг тарқалган бўлсада биологик ахборотларни таҳлил қилиш учун онтология ва мантикий усуллардан фойдаланиш ривожланиб бормоқда.

### **1.3. Биоинформатиканинг ривожланиш бочқичлари ва ютуқлари.**

Бир қанча хорижий давлатларда 20-21 асрларда биоинформатика жадал суратда ривожланаётган дунё биотиббиёт фанлари соҳасига айланиб борди. Биоинформацион технологиялар истеъмолчилари тадқиқотчилар, фундаментал ишланмалар муаллифлари билан бир қаторда тиббиёт, фармакология, биотехнология ҳамда ўқув муассасалари ҳисобланади. Фаннинг бу соҳаси АҚШда ва шунингдек бошқа ривожланган давлатларда муҳим йўналиш сафатида қаралади.

---

<sup>1</sup> Кузнецов П.Е., Грибов Л.А. Введение в молекулярное моделирование. Учебное пособие. - Саратов: Изд-во СГУ. – 2003.



Европа, Осиё, АҚШ ҳамда Австралия давлатларида биоинформатика марказлари сони йилдан-йилга кўпайиб бормоқда. Биоинформатика бўйича давлат, академик ҳамда таълим марказлари билан бир қаторда сўнгги йилларда соҳада олинган тадқиқот натижалардан тижорат мақсадида фойдаланишга йўналтирилган сезиларли даражадаги ташкилот ва лойиҳалар юзага келди (3-расм). Бу энг аввало геномларнинг, шунингдек одам геномининг структуравий, функционал ҳамда қиёсий таҳлили бўйича фаолият юритувчи ташкилотлардир. Биоинформатика соҳаси бўйича яратилган усулларни қўллаш билан бирга амалий муаммоларни ечиш йўлида, хусусан фармокологияда техник ҳамда дастурий базалар жадал суратда ривожланиб бормоқда. Бундай муаммоларни бартараф этишда дастурий таъминот саноати ҳам такомиллашиб бормоқда.



3-расм. Биоинформатика сервис марказлари ва ресурслари

Мамлакатимизда геномика ва биоинформатика фанларининг ривожланишига қаратилаётган алоҳида эътибор туфайли дунё фанида ўз ўрнига эга нуфузли илмий мактаб ва муҳит шакллантирилди, замонавий лабораториялар ташкил этилиб, кенг миқёсда халқаро илмий алоқалар йўлга

қўйилди.<sup>1</sup> Хусусан Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси Геномика ва биоинформатика марказида соҳада анчагина муваффақиятли дастурлар амалга оширилди. Марказда етакчи хорижий илмий марказ тажрибаларига эга, биоинформацион технологиялар бўйича билим ва кўникмаларни пухта эгаллаган илмий ходимларнинг фаолият олиб бориши ва шулар ҳисобга олинган ҳолда марказда биоинформатика лабораториясининг ташкил этилганлиги бунга яққол мисол бўла олади. Марказ илмий жамоаси ҳанузгача ноаниқ бўлган ғўза геномидаги рекомбинацион блоклар (яъни, авлоддан-авлодга кўчиб ўтадиган ген аллеллари тўплами) ўлчамларини топиб, замонавий тезкор “ассоциатив карталаштириш” усулини кашф этди. Натижада ғўза геномидаги генлардан фойдаланишнинг янги имкониятлари очилиб, ғўзада замонавий маркерларга асосланган селекция усуллари ишлаб чиқилди.

Ген-нокаут ёки РНК интерференцияси молекуляр генетика ва биоинформатика усуллари маҳсули бўлиб, организмнинг белгиланган генлари фаоллигини тўхтатиш имконини беради. Шу туфайли генлари “ўчирилган” (нокаут қилинган) организм вужудга келади. Бу нуклеотид кетма-кетлиги маълум бўлган генларнинг функциясини аниқлашга ёрдам беради. Нокаут қилинган ва нормал организм намуналари орасидаги фарқлар, ўрганилаётган ген функциясини кўрсатиб беради. Қишлоқ хўжалиги экинларининг биологик кўрсаткичлари – ҳосилдорлик, эртапишарлик, зараркунанда ва ҳашаротларга чидамлилиқнинг намоён бўлишида иштирок этувчи геннинг таркиби ва функцияси аниқлангандан сўнг мақсадга мувофиқ равишда ушбу ген фаолиятини кучайтириш ёки аксинча уни тўхтатиш мумкин. Марказ олимлари эришган энг сўнгги ютуқлардан бири – бу улар томонидан ғўза учун яратилган дунёдаги илк ген-нокаут технологиясидир.

### **1.3. Ген онтологияси.**

Биологиянинг замонавий йўналишлари биотехнология, генлар инженерлиги, геномика, биоинформатика каби йўналишларининг

---

<sup>1</sup> Marketa Zvelebil, Jeremy O. Baum // Understanding Bioinformatics, Garland Science 2007. 798 pages

ривожланиши фанда янги “ген онтология” терминининг юзага келишига сабаб бўлди. Ген онтологияси предметларига микроорганизмлар, ўсимликлар, хайвонлар ва инсон генлари уларнинг махсулотлари малумотлар баъзаси ва уларнинг аннотациялари киради.<sup>1</sup>

Ген онтология лойиҳаси молекуляр ва хужайра биологиясида бир неча доменларни ичига олади ва генлар, ген махсулотлари ва кетма-кетликлар бўйича маълумотларини тушунишда жамоатчилик фойдаланиши учун кенг имкониятлар очиб беради. Кўпгина модел организмларнинг маълумотлар баъзалари ва геном аннотацияси гуруҳларини яратишда ген онтологиясидан фойдаланилади ва уларнинг аннотациясида ген онтология манбалари ўрни бекиёсдир.

Консорциум ген онтология - бу “ген онтологияси” лойиҳасида фаол иштирок этаётган бир қатор биологик маълумотлар баъзалари ва тадқиқот гуруҳларидир. Бу турли хил модел организмлар учун бир қанча маълумотлар баъзалари, жами оқсиллар маълумотлар баъзаси, “ген онтологияси” дастурий таъминот ишлаб чиқувчилар ва муҳаррирлар гуруҳини ўз ичига олади.

Ген онтологияси биоинформатика дастурлар бўйича лойиҳа бўлиб, барча организмларнинг генлари ва ген махсулотлари стандартлаштирилган генетик маълумотлар баъзаларини йиғишга бағишланган. Лойиҳанинг мақсади генлар ва уларнинг махсулотлари сифатларидан бирини аниқ белгиланган рўйхатини маълумотлар базасига жойлаш ва янгилаш; генлар ва ген махсулотлар учун қўшимча аннотацияларни расмийлаштириш; ортиб бораётган маълумотлар базаси лойиҳасидан фойдаланиш учун маълумотлар тарқатиш. Ген онтологияси “*Очиқ биотиббийот онтологияси*” деб номланган классификацияси кенг қамровли қисми хисобланади.

Ген онтология деганда мураккаб биологик ҳодисаларни юзага келиши тасвирланган номаълум бир биологик объектларни тушиниш керак. Онтология дунёдаги объектлар ва улар орасидаги муносабатлар тўғрисидаги

---

<sup>1</sup> Plessis L, Skunca N, Dessimoz C (November 2011). «The what, where, how and why of gene ontology — a primer for bioinformaticians». Brief Bioinform. 12 (6): 723–35.DOI: 10.1093/bib/bbr002. PMID 21330331.

маълумотлар ёрдамида махсус билим йўналишларини расмийлаштиришда қўлланилади.<sup>1</sup> Биология ва бошқа тегишли фанлар учун универсал намунавий терминалогия етишмаслиги юзага келди. Терминлар бу қийин мулоқот қилиш каби тушунчаларни ифодалайди, лекин анча бир биридан фарқ қилиши мумкин, турли тадқиқот соҳаларида ва хатто турли йўналиш олимлари ўртасида ишлатилади. Шу муносабат билан, "Ген онтология" лойиҳасининг вазифаси барча организмларнинг генларини ва уларнинг маҳсулотларини вазифалари, функциялари, структурасини ва амалдаги онтологик атамаларни яратишдан иборат.

Ген онтология бошқариладиган сўзлар терминларлардан тузилган. Терминлар онтология низомига мувофиқ уч йўналиш молекуляр функция, биологик жараёнлар ва хужайра компонентларига бўлинади. Хар бир онтология бирор ген ёки ген маҳсулотларини функционал жихатдан ҳамда терминлар ўртасидаги алоқаларни тасвирлайди. Тартибга солувчи алоқалар икки қуйи синфлари бор: ижобий тартибга солувчи ва салбий тартибга солувчи.

Ген онтологияда тез-тез янги ўзгартиришлар бўлиб, атамалар ёки эскирган маълумотлар олиб ташланади. Агар терминлар онтологиядан ўчирилган бўлса белгиланган терминлар ўз кучида қолади лекин эскирган ёрликлар ва термин барча алоқалари олиб ташланади. Алоқаларни ўзгартириш аннотацияларга тасир қилмайди чунки уларнинг ген онтологияда жойлашган ўрнига эмас балки аннотациялар ўзига хос махсус терминларга йўналтирилган. Ген онтология лойиҳаси генлар функцияларини каталоглаштириш учун катта манба бўлади. Шундай бўлсада ундан ҳали ҳамма жойда фойдаланилмайди ва ханузгача мураккаблигича қолмоқда.

Ген онтологияси 1998 йилда тадқиқотчилар консортсиум асосида уч модел организмлар *Drosophila melanogaster* (мева пашшаси), *Mus musculus* (сичқон) ва *Saccharomyces cerevisiae* (нон ачитқиси) геномлари ўрганилиб (4-

<sup>1</sup> Smith B, Ashburner M, Rosse C, Bard J, Bug W, Ceusters W, Goldberg LJ, Eilbeck K, Ireland A, Mungall CJ, Leontis N, Rocca-Serra P, Ruttenberg A, Sansone SA, Scheuermann RH, Shah N, Whetzel PL, Lewis S (November 2007). «The OBO Foundry: coordinated evolution of ontologies to support biomedical data integration». Nat. Biotechnol. 25 (11): 1251–5. DOI:10.1038/nbt1346. PMID 17989687.

расм), уларни ўқилиши ва генетик маълумотлар баъзаси яратилиши асосида ташкил этилган.<sup>1</sup> Сўнгра бошқа модел организмлар учун кўр маълумотлар баъзасини шу тарика кўриш ва маълумотларидан фойдаланиш, кўшимча аннотациялар баъзасини яратишни кенгайтириш, каби жараёнларда ген онтологиясидан фойдаланилди.

Ўсимлик, хайвон ва микроорганизмлар энг асосий генетик маълумотлар баъзалари бу лойихага хисса қўшмоқда. 2008 йил январ ҳолатига кўра, ген онтология дастури турли хил биологик организмларда қўлланиладиган 24.500 дан ортиқ терминларини ўз ичига олади. У маълумотлар ген онтологиясини ривожлантириш ва ундан фойдаланиш бўйича адабиётларда муҳим таянч ҳисобланади, ва у биоинформатика соҳасида тегишли стандарт воситаси бўлиб келган.

2011 йил сентябр ҳолатига кўра, ген онтологияси 360 минг дан зиёд тирик организмлар учун 33 мингдан ортиқ терминлар ва 12 миллион атрофида ген маҳсулотлар аннотацияси мавжуд.<sup>2</sup> Сўнгги бир неча йил давомида, ген онтология консортсиум ген онтология сифати ва специфик аннотация миқдорини ошириш учун бир қатор ўзгаришлар амалга оширилди. 2013 йилга келиб, аннотациялар сони 96 миллиондан ошди. Аннотация сифати автоматлаштирилган сифат назорати йўли билан такомиллаштирилди.

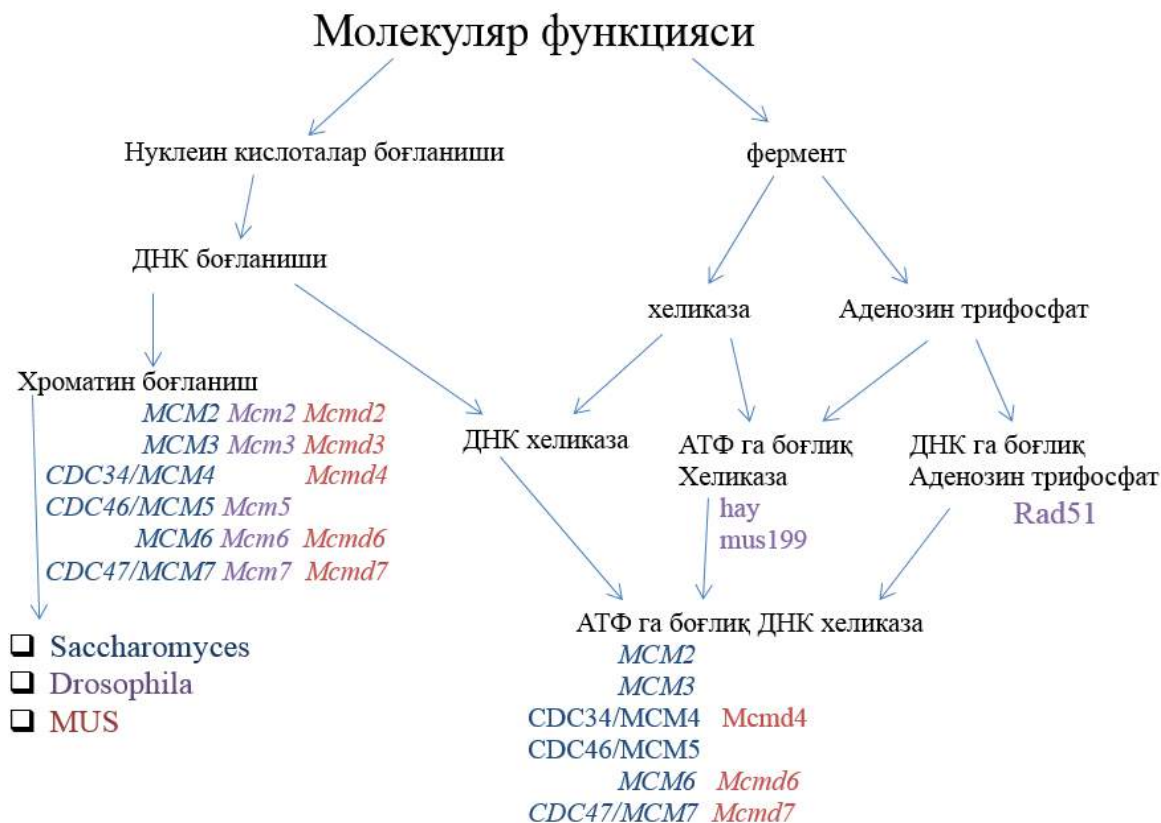
Ген онтология консортсиум сўнгги пайтларда биологик жараёнларнинг бевосита кичик синфи сифатида, янги биологик босқичини жорий этди. Бу синф биологик жараёнлар содир бўлиши мумкин бўлган пайтида алоҳида даври ёки босқичини ифодалайди. Улар шунингдек, бошқа биологик жараёнлар билан тартибга солинади. Биологик жараёнлар мураккаб ҳодисалар бўлиб, организмлар ҳаёти учун зарур молекуляр функцияларни амалга

---

<sup>1</sup> Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G (May 2000). «Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium». *Nat. Genet.* 25 (1): 25–9. DOI:10.1038/75556.PMID 10802651.

<sup>2</sup> Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G (May 2000). «Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium». *Nat. Genet.* 25 (1): 25–9. DOI:10.1038/75556.PMID 10802651.

оширилиши демакдир.<sup>1</sup> Мисол учун турли биологик жараёнлар хужайра бўлиниш сикли метафаза ва профаза ҳамда хайз кўриш пайти, жинсий хужайраларни кўшилиши ва ривожланиш босқичи.



**4-расм.** Учта турли модел организмлар намуналари ёрдамида ген онтологиясини тузилиши ва функциясини ифодалаш яъни бир онтология ичида генларни боғланиши мисол қилиб келтирилган. Онтологиялар биологик калит сўзлардан тузилган.

### Ген онтология биологик жараёнида "босқичларни" ифодалаш

Ген онтологияси биологиянинг бошқа йўналишлари яъни, биотехнология, генлар инженерлиги, геномика, биоинформатика, биокимё, физиология, протеомика каби йўналишларда олиб борилган тадқиқотларнинг маҳсули асосида йўналиш сифатида юзага келди.<sup>2</sup> Юқорида кўрсатилган фанлар ген онтологияси маълумотлар баъзасидан фойдаланиб келмоқда. Биомедицинада турли генетик касалликларни даволаш, уларга ташхис қўйиш ишларида ген онтологияси мажмуига кирувчи инсон геноми маълумотлар баъзасидан кенг фойдаланилмоқда. Булардан ташқари қишлоқ хўжалиги

<sup>1</sup> The Gene Ontology Consortium (January 2012). «The Gene Ontology: enhancements for 2011.». Nucleic Acids Res. 40 (Database issue): D559–64. DOI:10.1093/nar/gkr1028. PMID 22102568.

<sup>2</sup> The Gene Ontology Consortium (January 2013). «Gene Ontology annotations and resources.». Nucleic Acids Res. 41 (Database issue): D530–5. DOI:10.1093/nar/gks1050. PMID

махсулотларини геномларини тадқиқ қилиб, янги ўсимлик навлари, ҳайвон зотлари яратилишида, уларни махсулдорлигини оширишда қўлланилмоқда.

### **Назорат саволлари:**

1. Биоинформатика нима?
2. Биоинформатика бўлимларини айтиб беринг?
3. Геномларни аннотация қилиш деганда нималар тушунилади?
4. Ўзбекистонда биоинформатика фанининг ривожланиш ҳолати?

### **Фойдаланиладиган адабиётлар:**

1. Леск А.М. Введение в биоинформатику /Introduction to Bioinformatics / пер. с англ. под ред. А.А.Миронова, В. К. Швядаса. - М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2009. - 318, [2] с. : цв. ил, рис.
2. Сетубал Ж., Мейданис Ж. Введение в вычислительную молекулярную биологию / Introduction to Computational Molecular Biology / пер. с англ. А. А. Чумичкина; под ред. А. А. Миронова. - М. ; Ижевск : Регуляр. и хаот. динамика: НИЦ "Регулярная и хаотическая динамика", Ин-т компьютер. исслед., 2007. - 420 с.
3. David W. Mount, Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001
4. Xiong Z.J. // Essential Bioinformatics, Cambridge University Press 2006, 362 pages.
5. Marketa Zvelebil, Jeremy O. Baum // Understanding Bioinformatics, Garland Science 2007. 798 pages

## 2 - мавзу: ГЕНОМНИ ТАҲРИЛАШ ТЕХНОЛОГИЯЛАРИ

### РЕЖА

- 2.1. *Геномни таҳрирлаш технологияларига асос солиниши.*
- 2.2. *Геномни таҳрирлаш тизимларининг асосий йўналишлари. Янги авлод технологиялари: Zinc Finger, TALEN, CRISPR.*
- 2.3. *Геном муҳандислигида TALEN ва CRISPR/Cas қўлланилиши.*

**Таянч иборалар:** *Таҳрирлаш, антисенс, Zinc Finger, TALEN, CRISPR, тандем, Xanthomonas, домен, геном локуслари.*

### 1.1. Геномни таҳрирлаш технологияларига асос солиниши.

Ўсимликлар, ҳайвонлар ва одам геномининг тўлиқ секвенирланиши натижасида олинган маълумотлар биоинформатика усуллари орқали биотехнология, молекуляр биология, қишлоқ хўжалиги ва тиббиёт соҳаларида кенг миқёсда қўллаш учун катта имкониятлар очиб бермоқда. Бироқ геномнинг алоҳида элементларининг функционал ўзаро боғлиқларини ва уларнинг фенотипик белгиларини ҳамда алоҳида касалликларнинг патогенези шаклланишидаги ролини тушуниш учун геномларнинг фақатгина нуклеотид кетма-кетликлари тўғрисидаги маълумотлар етарли эмас.

Постгеном соҳасида геномлардаги ДНКларни манипуляция (бошқариш) қилиш, генлар экспрессиясини ва регулятор элементларнинг ишларини бошқариш ва визуаллаштириш имконини берувчи усуллар фаол ривожланиб бормоқда.<sup>1</sup> Аммо барча усуллар ҳам самарадорлиги, ҳавфсизлиги ҳамда кенг доирадаги тадқиқотчилар қўллаши учун юқори талабларга жавоб бермайди.<sup>2</sup>

Сўнгги бир неча йиллар ичида геномларни таҳрирлаш учун TALEN, Zinc Finger ва CRISPR/Cas9 (инглизча CRISPR - Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, ўзбек тилида - мунтазам гуруҳларда жойлашган қиска палиндромик такрорлар) каби янги технологиялар вужудга келди.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Capecchi MR. // Gene targeting in mice: functional analysis of the mammalian genome for the twenty-first century. Nat Rev Genet. 2005 Jun;6(6):507-512.

<sup>2</sup> Kim Y.G., Cha J., Chandrasegaran S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. № 3. P. 1156–1160.

<sup>3</sup> Townsend JA1, Wright DA, Winfrey RJ, Fu F, Maeder ML, Joung JK, Voytas DF. // High-frequency modification of plant genes using engineered zinc-finger nucleases. // Nature. 2009 May 21;459(7245):442-5. doi: 10.1038/nature07845. Epub 2009 Apr 29.



Ушбу яқинда пайдо бўлган тизимлар аллақачон геном мухандислигининг самарали ва ишончли технологияларига айланиб улгирди. Бу инновацион технологияларни замонавий биологиянинг асосий модел объектлари геномларини таҳрирлашда ҳамда геномларнинг функционал скрининги, одам ирсий касалликлари хужайра моделларини яратиш, эпигеномикасини ўрганиш ва хужайрада содир бўладиган жараёнларни визуализация қилишда қўлланилади.

Ген мухандислиги соҳасининг тарихи 1972 йилда америкалик олим Пол Наим Берг (Paul Naim Berg) лабораториясида рекомбинант ДНК яратилиши билан бошланган. Бу тажрибада олимлар ичак таёқчаси геномини бактериофаг ва вирус (SV40) генлари билан бирлаштирган. Ушбу кашфиётдан сўнг ген мухандислиги соҳасида улкан ютуқларга эришилди, молекуляр-генетик механизмлар ва ҳодисалар мукамал ўрганилди ва кашф этилди, эндиликда бу ҳодисаларни *in vitro* шароитида амалга ошириш мумкин. Бактерия ҳамда вирусларнинг молекуляр генетикаси ва биокимёси соҳасидаги изланишлар биоинформатик усуллар ёрдамида ДНКни манипуляция қилиш (бошқариш) ва турли вектор тизимлари ишлаб чиқиш, уларни хужайрага киритиш усул ва услубларини яратиш имконини берди. Бунинг натижасида эса нафақат трансген микроорганизмлар, балки генетик модификацияланган ўсимликлар ва ҳайвонлар олишга эришилди.

Биоинформатика соҳасининг шиддат билан ривожланиши биотехнология ва селекция йўналишлари тараққиётига туртки бериб, ген мухандислигининг амалий соҳасини юзага келтирди. Бироқ анъанавий ген мухандислиги усуллари бир қатор камчилик эга бўлиб, булардан биттаси - одам ва ҳайвонларнинг катта геномларини манипуляция қилиш ўта мураккаблигидадир.

Ҳалқаро “Одам геноми” лойиҳаси доирасида 1990-2003 йиллар давомида одам ядро ДНКсининг нуклеотид кетма-кетлиги аниқланди ва 20,5 мингга яқин генлар идентификация қилинди. Бу каби кўплаб лойиҳалар ҳозирги вақтда ҳам олиб борилмоқда, асосий биологик модел объектлар геномлари -

ичак таёқчаси, нематода, дрозофила пашаси, сичқон ва ҳ.о. нуклеотид кетма-кетлиги аллақачон ўқиб бўлинган. Бу лойиҳалар орқали ДНКнинг фақат нуклеотид кетма-кетликлари тўғрисидаги маълумотлар олиш имкони бор, аммо геном алоҳида элементларининг функцияси ва уларнинг ўзаро бутун геном тизимига боғликлари тўғрисидаги бирон маълумот олиш имкони йўқ. Одам геномидаги функционал ўзаро боғлиқларни англаш, нафақат ирсий патологияларнинг сабаб-оқибатларини, балки кўп омилларга боғлиқ бўлган касалликларнинг сабабларини аниқлаш ва уларни даволаш учун нишонлар ҳам топиш имконини беради.

Одам геноми Миллий тадқиқот институти 2003 йилда янги халқаро лойиҳа ENCODE (ингл. Encyclopedia of DNA Elements, ўзб. ДНК элементлари энциклопедияси) устида иш бошлади. Лойиҳадан мақсад – олимларнинг интилиш ва изланишларини бирлаштирган ҳолда РНК ва оқсиллар даражасида фаол бўлган элементлар, фундаментал генетик жараёнларни (транскрипция, трансляция ва репликация) назорат қилувчи регулятор элементлар ва одам геноми функционал элементларининг тўлиқ рўйхатини олиш эди. Бу каби функционал ўзаро алоқадорликларни аниқлаш учун қуйидаги икки стратегия қўлланилади: генни ўчириш (накоут ёки ноқдаун) ҳамда ген фаолиятини ёки унинг эктопик экспрессиясини кучайтириш. Анъанавий усуллар - гомологик рекомбинациялар қўлланган трансгенез сичқонларда, бундан ташқари вирусли ва лентивурусли векторларнинг қўлланилиши нафақат қиммат, балки жуда катта меҳнат талаб этади, улар ўта қатъий белгиланган геном локусида аниқ ўзгаришлар киритиш имконини бермайди.

Ҳозирги кунда олимлар ихтиёрида бир неча технологиялар пайдо бўлди, булар орқали ўсимликлар, ҳайвонлар ва одам геномларини ўта юқори аниқликда таҳрирлаш имконини беради.

## 1.2. Геномни таҳрирлаш тизимларининг асосий йўналишлари. Янги авлод технологиялари: Zinc Finger, TALEN, CRISPR.

**Zinc-finger технологияси.** *Fok I* – эндонуклеазалар домени билан боғланган оксил домениниг “Рух бармоқчалари” типи сайт-специфик нуклеаза сифатида фаол бўлиб ДНКни *in vitro* шароитида катъий белгиланган участкаларини ўта аниқликда қирқиши аллақачон 1996 йилда биринчи марта кўрсатиб берилган эди. Шу каби химерик оксиллар модулли структурага эга бўлиб ҳар бир “рух бармоқчалари” домени бир нуклеотид триплетини танийди (Zinc-finger Nuclease, ZFN).<sup>1</sup> Бу култураланадиган хужайралар жумладан плюрипотент тана хужайралари ҳамда модел ҳайвонлар ва ўсимликларда асосий таҳрирлаш усулига айланди.<sup>2</sup> Аммо ZFN технологияси мураккаблиги ва ҳар бир аниқ геном локуслари учун оксил доменларининг конструкциясини тузишга юқори ҳаражат талаб этилиши, бир нуклеотидли алмашинув ёки доменлар аро ўзаро нотўғри таъсирлар сабабли ДНК-нишоннинг ноаниқ қирқилиши эҳтимолликлари каби бир нечта камчиликларга эга.<sup>3</sup> Шунинг учун геномни таҳрирловчи янги технологиялар топиш мақсадида фаол изланишлар давом этди. Сўнгги йилларда бу изланишлар геномларни таҳрирлаш имконини берувчи янги инструментларнинг яратилишига сабаб бўлди.<sup>4</sup>

**TALEN технологияси.** Бу тизимлар – TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases, яъни транскрипцияни фаоллаштирувчиларга ўхшаш эффектор нуклеазалар) ва CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, яъни - мунтазам бир-биридан бир хил узокликда жойлашган қисқа палиндромик гуруҳлар такрорлари).<sup>5</sup> Ушбу тизимлар одам, ўсимликлар ва ҳайвонлар хужайрасида юқори самарали ишларни амалга

<sup>1</sup> Townsend JA1, Wright DA, Winfrey RJ, Fu F, Maeder ML, Joung JK, Voytas DF. // High-frequency modification of plant genes using engineered zinc-finger nucleases. // Nature. 2009 May 21;459(7245):442-5. doi: 10.1038/nature07845. Epub 2009 Apr 29.

<sup>2</sup> Zhang F1, Maeder ML, Unger-Wallace E, Hoshaw JP, Reyon D, Christian M, Li X, Pierick CJ, Dobbs D, Peterson T, Joung JK, Voytas DF. // High frequency targeted mutagenesis in Arabidopsis thaliana using zinc finger nucleases.// Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Jun 29;107(26):12028-33. doi: 10.1073/pnas.0914991107. Epub 2010 May 27.

<sup>3</sup> Jianbin Wang, Joshua J. DeClercq, Samuel B. Hayward, Patrick Wai-Lun Li, David A. Shivak, Philip D. Gregory, Gary Lee, and Michael C. Holmes // Highly efficient homology-driven genome editing in human T cells by combining zinc-finger nuclease mRNA and AAV6 donor delivery // Nucleic Acids Res. 2016 Feb 18; 44(3): e30.

<sup>4</sup> Wang J, Friedman G, Doyon Y, Wang NS, Li CJ, Miller JC, Hua KL, Yan JJ, Babiarz JE, Gregory PD, et al. Targeted gene addition to a predetermined site in the human genome using a ZFN-based nicking enzyme. // Genome Res. 2012 Jul; 22(7):1316-26. Epub 2012 Mar 20.

<sup>5</sup> Keith Joung J. and Jeffrey D. Sander // TALENs: a widely applicable technology for targeted genome editing // Nat Rev Mol Cell Biol. 2013 Jan; 14(1): 49–55.

ошириш ва улар учун конструкциялар тузишнинг нисбатан соддалиги билан фарқ қилади. Бу каби технологиялар геномлар устида турли хил манипуляцияларни амалга оширишда фаол қўлланилмоқда ва бу орқали трансген ва мутант ҳайвон ва ўсимликлар яратиш ҳамда култураланадиган одам плюрипотент хужайралари асосида касалликлар моделини яратиш ва тадқиқ этиш каби бир қатор мураккаб муаммоларни ҳал этиш учун имкон яратади. Бундан ташқари эпигеномикасини ўрганиш ва хромосома локусларини хужайра циклида ўтказиш учун TALEN ДНК- боғловчи доменлари асосидаги химерик оқсиллар ва фаолияти тўхтатилган (инактивация) Cas9 нуклеазаларидан генлар транскрипциясини бошқариш бўйича олиб борилган тажрибаларда фойдаланилган.

2011 йилда геномларни юқори даражадаги аниқликда тахрирлаш имконини берувчи усуллар қаторида TALEN тизими ҳам нуфузли “Nature Methods” халқаро журнали томонидан йил технологияси деб тан олинди. Бу технологиянинг яратилиш тарихи *Xanthomonas* авлоди бактерияларининг ўрганилиши билан боғлиқ. Ушбу бактериялар шоли, қалампир, помидор каби ўсимликларнинг патогени ҳисобланиб қишлоқ хўжалигига катта иқтисодий зарар келтиради, бу эса уларнинг синчковлик билан ўрганилишига сабаб бўлди. Аниқланишича, бактериялар ўсимликлар хужайраларининг цитоплазмасига эффектор оқсилларни (TALE, Transcription Activator-Like Effectors) ажратиб чиқаради, бу эса ўсимликлар хужайрасидаги жараёнларга таъсир этиб патогенларга нисбатан чалинувчанлик даражасини оширади. Кейинчалик эффектор (таъсир этувчи) оқсилларнинг фаолият механизмларини ўрганиш натижасида, улар эукариотлардаги транскрипция омилларини такрорлаб ДНК билан боғлана олиш ва ўзларининг ген-нишонларининг экспрессиясини фаоллаштириш қобилиятига эга эканлиги аниқланди.

TALE оқсиллари ДНКга боғланиши, домен ва ядрога жойлашиш сигнали ҳамда мақсаддаги геннинг транскрипциясини фаоллаштириш учун жавобгар марказий домендан ташкил топган. Биринчи марта ушбу оқсилларнинг ДНКга боғлана олиш қобилиятлари 2007 йилда тавсифланган эди, бир йил ўтиб эса

икки гурух олимлар томонидан TALE оқсилларининг нишонланган ДНК изчилликларини таниб олиш кодлари аниқланди.<sup>1</sup> ДНКга боғланувчи домен мономерлардан ташкил топганлиги ва уларнинг ҳар бири битта нуклеотид билан нишонланган нуклеотид кетма-кемлигига боғланиши кўрсатиб берилди.

Мономерлар иккитаси юқори ўзгарувчан (Repeat Variable Di-residue, RVD) 12- ва 13- позицияларда жойлашган 34 аминокислоталар қолдиғидан иборат тандем такрорларни намоиш этади.<sup>2</sup> Бунда айнан ўша юқори ўзгарувчан аминокислоталар белгиланган нуклеотидларни таниб олишга жавобгар ҳисобланади. Бу код туғма (дегенератив вырожденный) ҳисобланади. Баъзи юқори ўзгарувчан аминокислоталар бир неча нуклеотидлар билан турли самарадорлик билан боғланиши мумкин. Бунда TALE мономерлари боғланадиган 5'- охир нуклеотид кетма-кетлиги олдидан нишонланган ДНК молекуласида доим фақат тимидин нуклеотида жойлашган бўлади, бу эса боғланиш самарадорлигига таъсир этади.<sup>3</sup> Сўнгги 3'-уци таниб олиш сайтига боғланувчи тандемли такрор 20 аминокислота қолдиғидан иборат бўлиб у ярим такрор деб номланади.

TALE оқсиллари ёрдамида ДНК кодларининг ўқилиши аниқланганидан сўнг ўзининг соддалиги (бир мономер- бир нуклеотид) билан бутун дунё олимларининг қизиқишини уйғотди ва TALEN - химерик нуклеазалар яратиш бўйича биринчи тажрибалар амалга оширилди.<sup>4</sup> Шу мақсадда TALE доменига боғланиб ДНКни кодирловчи изчилликни плазмида векторига киритилди, бу вектор илгари ZFN технологиясини яратишда фойдаланилган. Натижада ДНКга боғланувчи доменни ва FokI рестрикциялари эндонуклеазаларининг каталитик доменини ўз ичига олган сунъий химерик нуклеазалар экспрессия қилувчи генетик конструкциялар яратилди. Бу технология ДНК-боғловчи домен турли юқори ўзгарувчан мономерларни (Repeat Variable Di-residue,

---

<sup>1</sup> Watanabe T, et al. Non-transgenic genome modifications in a hemimetabolous insect using zinc-finger and TAL effector nucleases. *Nat Commun.* 2012;3:1017.

<sup>2</sup> Sander JD, et al. Targeted gene disruption in somatic zebrafish cells using engineered TALENs. *Nat Biotechnol.* 2011;29:697–698.

<sup>3</sup> Huang P, et al. Heritable gene targeting in zebrafish using customized TALENs. *Nat Biotechnol.* 2011;29:699–700.

<sup>4</sup> Bedell VM, et al. In vivo genome editing using a high-efficiency TALEN system. *Nature.* 2012

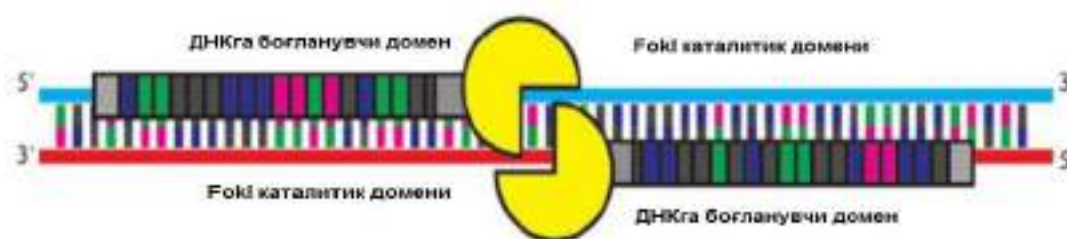
RVD) бирлаштирган ҳолда исталган нуклеотид кетма-кетлиги нишон бўлган сунъий нуклеазалар яратиш имконини беради. Кўп ҳолларда А, Т, G, С нуклеотидларини мос равишда боғлаш учун Asn ва Ile (NI), Asn ва Gly (NG), икки Asn (NN), His ва Asp (HD) ларни ўз ичига олган юқори ўзгарувчан (RVD) мономерлардан фойдаланилади. Бунда юқори ўзгарувчан мономерлар-RVD NN, А ҳамда G сифатида боғланиши мумкин. Кўплаб тажрибаларда гуаниннинг янада спецификроқ боғланиши учун NH ёки NK мономерлари қўлланилганида кераксиз нишонга боғланиш хатоликларини камайтиради. Юқори ўзгарувчан мономерлардаги-RVD (H ёки N) биринчи аминокислота қолдиғи бевосита нуклеотидга боғланишда қатнашмайди, лекин фазовий конформацияни стабиллаш учун жавоб бериши аниқланди. Иккинчи аминокислота қолдиғи нуклеотид билан ўзаро боғланади, бунда боғланиш табиати турлича: D ва N азотли асослар билан водород боғларини ҳосил қилади, лекин I ва G Ван-дер-Ваальс кучи ҳисобига нишонланган нуклеотидлар билан боғланади.<sup>1</sup>

Доменга боғланувчи сунъий ДНК ядро локализацияси сигналига, N- учи домени ва FokI каталитик доменига эга бўлган яримтакрор генетик конструкцияга киргизилади. Сунъий нуклеазалар учун ишонланган сайтлар қуйидагича танлаб олинади: улар ДНКнинг турли занжирларида бўлиши ва спейсер кетма-кетлигида кичик участкаларга (12-25 ж.н.) ажратилган бўлиши керак бўлади. Сунъий нуклеазаларнинг ядрога бориб жойлашиши билан улар нишонланган сайтлар билан боғланади, натижада C учларида жойлашган химерик оксилларнинг FokI доменлари димеризацияланади ва спейсер кетма-кетлигига икки занжирли бўшлиқ ҳосил қилади. (1-расм)

---

<sup>1</sup> Lei Y, et al. Efficient targeted gene disruption in *Xenopus* embryos using engineered transcription activator-like effector nucleases (TALENs) Proc Natl Acad Sci U S A. 2012.

### Геномнинг мақсадли (нишонли) локуси



### TALEN химерик оқсиллари жуфтлиги

Оқсил доменлари ёрдамида нуклеотидларни таниб олиш коди

NI = A      NG = T      NN = G      HD = C

*1-расм. TALEN химерик оқсиллари ёрдамида икки ипли (занжирли) бўшлиқ киритиш* схемаси. ДНКга боғланувчи оқсил доменининг бир мономери ДНКнинг мақсадли (нишонли) кетма-кетлигида бир нуклеотидни таниб олади. Боғланиш учун мономердаги икки аминокислота қолдиғи жавоб беради, таниб олиш коди келтирилган (аминокислота қолдиқлари бир ҳарфда ифодаланади). Таниб олиш сайтлари масофада ДНКнинг турли занжирларида жойлашган, бу эса FokI каталитик доменлари димеризацияси учун етарлидир. FokI димери сифатида ДНКга икки занжирли бўшлиқ киритади.

Назарий жиҳатдан ДНКга боғланувчи доменларнинг маълум таниб олиш сайтлари билан геномнинг исталган участкасига TALEN сунъий нуклеазалари ёрдамида икки занжирли бўшлиқ киритиш мумкин. TALEN нуклеазалари сайтларини танлашдаги ягона чеклов, бу нишонланган кетма-кетликдаги 5'-учи олдидан T нинг мавжуд бўлиш заруриятидир.<sup>1</sup> Аммо спейсер кетма-кетлиги узунлигини ўзгартириш билан кўп ҳолларда сайт танловларини амалга ошириш мумкин. ДНКга боғланадиган доменнинг W232 қолдиғи N-охир участкасининг таркибида 5'-T билан ўзаро бирикади, бунда у TALEN нинг нишонланган сайтлар билан бирикиш самарадорлигига таъсир кўрсатиши аниқланган.<sup>2</sup> Аммо A, G, ёки C билан боғлана олувчи TALEN N-охирли доменининг мутант вариантларининг селекцияси натижасида бу муаммони ҳал этиш имкони бор.

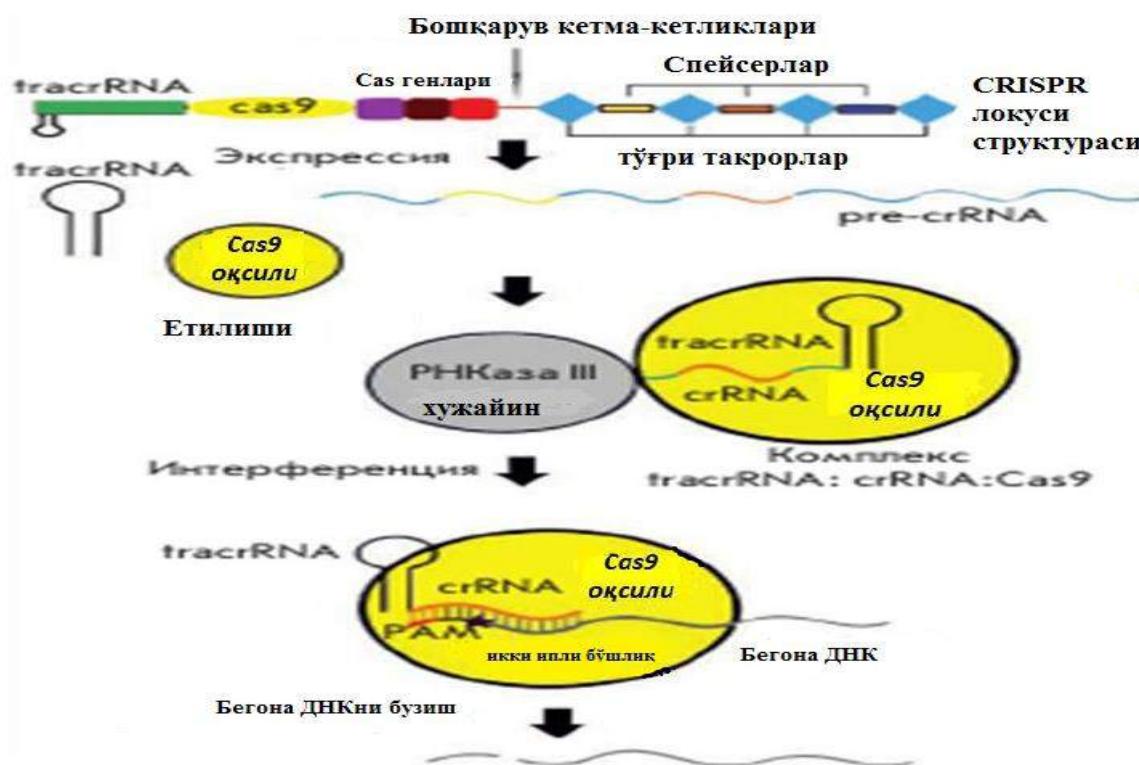
**CRISPR технологияси.** TALEN химерик оқсиллари тизими кашф қилинганидан икки йил ўтиб CRISPR геномни таҳрирлаш технологиясини

<sup>1</sup> Cermak T, et al. Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. *Nucleic Acids Res.* 2011;39:e82.

<sup>2</sup> Li T, Liu B, Spalding MH, Weeks DP, Yang B. High-efficiency TALEN-based gene editing produces disease-resistant rice. *Nat Biotechnol.* 2012;30:390–392.

фаол қўллаш ривожланди.<sup>1</sup> Бу технологиянинг элементлари кодирламайдиган РНК ва Cas (CRISPR-associated) оқсиллари ҳисобланади. TALEN химерик оқсилларидан фарқли равишда CRISPR/Cas тизими ёрдамида таниб олиш хусусияти нишонланган ДНК ва кодирламайдиган РНКларнинг ўзаро комплементар боғланиши ҳисобига амалга оширилади.

Бунда нуклеаза фаоллигига эга кодирламайдиган РНК ва Cas оқсилларидан иборат комплекс ҳосил бўлади. Баъзи бактерия генларида 1987 йилда сирли такрорлар аниқланган, уларнинг функциялари қарийб 20 йил давомида номаълумлигича қолди. Бактерия генларининг секвенс қилиниши геномда аналогик нуклеотид кетма-кетлиги эга бўлган кўплаб микроорганизмларнинг аниқланишига сабаб бўлди, булар характерли структурага эга, яъни ноёб ДНК-спейсерларининг қисқа участкалари бир-бирдан қисқа палиндром такрорлар билан ажралган (2-расм). Айнан ушбу хусусиятига кўра улар CRISPR деб номланди.



2-расм. Бактерия хужайраларида CRISPR/Cas9 ҳаракатланиши механизми

<sup>1</sup> Wei Zhu et. al // CRISPR/Cas9 produces anti-hepatitis B virus effect in hepatoma cells and transgenic mouse. // Virus Research, 2016. 217, 125-132



Бундан ташқари бу каби CRISPR кассеталари бевосита оксил маҳсулотлари нуклеаза ва хеликаза фаоллигига эга бўлган Cas генлари (CRISPR-associated- CRISPR билан ассоциацияланган) яқинида жойлашган бўлади.<sup>1</sup> Бир-биридан беҳабар биоинформатикларнинг уч гуруҳи спейсер ДНК кўплаб фаг ва плазмидаларнинг ДНКсига гомолог эканлигини 2005 йилда маълум қилди. 2007 йилда CRISPR спейсер локусида мавжуд ва бактериофагга чидамли бўлиб бораётган *Streptococcus thermophilus* хужайралари бактериофагнинг геном ДНКсига комплементар эканлиги аниқланди. Шу тарзда CRISPR/Cas технологияси ноёб механизм бўлиб микроорганизмларни бегона ДНК киришидан ҳимоялаши ва рестрикция-модификация тизими билан бир каторда фаол бўлиб генетик маълумотларни горизонтал кўчирилишини чеклаши аниқланди.

CRISPR- тизимлари прокариот организмлар ўртасида кенг тарқалган: улар 87% архей ва 48% эубактерияларда аниқланган. Шунинг учун ҳар хил организм турларида геномдаги (1-18) CRISPR-кассеталари миқдори каби такрорларнинг миқдори (ўртача 60) ва хажми (ўртача 23-37 н.ж.), шунингдек спейсерларнинг сони ва хажми (17-84 н.ж.) ўзгарувчан бўлади. Бунда бир кассета ичидаги спейсерлар ва такрорларнинг узунлиги ўзгармас ва такрорлар кетма-кетлиги эса бир хил бўлади.<sup>2</sup>

Ҳимоя механизми уч асосий босқичдан иборатдир (2-расм). Биринчи адаптация босқичида бактерия хужайрасига кирган бегона ДНКнинг кичик фрагменти янги спейсер ҳосил қилиб хўжайин геномининг CRISPR-локусига ўрнатилади. Вирус геномида бу фрагмент протоспейсер сифатида спейсерга комплементар ва қисқа (2-5 н.ж.) фланкирланган консерватив изчилликда мавжуд бўлади, бу PAM (Protospacer Adjacent Motif; протоспейсерга тегишли мотив) деб номланади. Янги спейсер доим CRISPR кассетаси олдидан АТ га бой лидер кетма-кетлик тарафидан ўрнашади, худди шу жойда промотор

---

<sup>1</sup> Zhan-Qi Dong et. al // Establishment of a highly efficient virus-inducible CRISPR/Cas9 system in insect cells. // Antiviral Research, 2016. 130, 50-57

<sup>2</sup> Lichun Tang et. al // In vitro CRISPR-Cas9-mediated efficient Ad5 vector modification. // Biochemical and Biophysical Research Communications, 2016. 474(2), 395-399.

элементлари ва регулятор оксилларнинг ўтказиш сайтлари жойлашган. Барча изланишларга кўра, айнан шу тарзда кўпчилик CRISPR/Cas-тизимларининг нишонлари ҳосил бўлади.

Транскрипциянинг иккинчи босқичида барча CRISPR локуслари pre-crRNA (poly-spacer precursor crRNA; CRISPR РНКнинг ярим спейсерли ўтмишдоши) узунлигида транскрипцияланади (2-расм). Етилмаган транскрипциянинг етилган crRNA ҳолатига процессинг қилиниши CRISPR/Cas-тизимларида кўп ҳолларда Cas6 эндонуклеазалари томонидан амалга оширилади. 39-45 нуклеотид узунлигидаги қисқа crRNA (CRISPR РНК) бир спейсер кетма-кетлигига эга бўлиб охирларида стержень-бигиз структурасининг шаклланишида иштирок этувчи такрорлар жойлашган: гидроксил гуруҳига эга такрорнинг сўнгги саккиз нуклеотидлари 5' учиди стержень ҳосил қилади, ва тўғноғичсимон структура 2', 3'-циклик фосфат билан 3'-учиди илмоқли урчуқ (бигиз)ни ҳосил қилади.

Учинчи босқич – бегона РНК ёки ДНКни интерференция (фаолиятини сусайтириш) қилиш, бу жараён crnA ва cas-оксиллари комплексининг ўзаро таъсири ҳисобига амалга оширилади. CrnA комплементар ҳолда протоспейсернинг кетма-кетлигини таниб олади ва cas-оксиллари уларнинг бузилишини таъминлайди (2-расм).

ДНК-нишонларни эффектор мажмуаси билан деградация қилиш учун crnA нуклеотидларининг ДНК-нишонлари билан ўзаро -2, -3, -4 позицияларда (агар +1 протоспейсернинг биринчи асосига қабул қилинса) комплементар бирикиши рўй бермаслиги керак. CrnA ва ДНК-нишонларнинг ўзаро комплементар бирикиши ушбу позицияларда эффектор мажмуасининг шаклланишини бузади, бу эса геном ДНКсини қирқишга ва унинг кейинчалик деградацияга учрашига тўсқинлик қилади.

Вируслар ва уларнинг хўжайин организмларининг узоқ коэволюцияси вирусларда crISPr-интерференцияларга қарши ҳимоя механизмларининг пайдо бўлишига олиб келди.

Бу бактерия ва архейларда crISPr/cas-тизимларининг катта хилма-хилликларга эга эканлиги билан тушунтирилади.

Биоинформатик тадқиқотлар барча crISPr/cas-тизимларини асосий уч типга (I–III) ва бу типларни яна камида 10 та гуруҳларга бўлади. Ҳозирги кунда булардан *S. Pyogenes* патогенидан ажратиб олинган II-A типининг crISPr/cas-тизими геном муҳандислигида фаол қўлланилади. Бу бактерияда cas генининг минимал тўплами аниқланган. Биргина полуфункционал cas9 оқсили pre-crnA процессингини ҳамда бегона ДНКнинг интерференциясини амалга оширади.

CrnA процессинги кодирламайдиган кичик РНК - tracrnA (trans-activating crnA; трансактивирующая crРНК) билан ҳам боғлиқ бўлади. TracrnA молекулалари pre-crnA кетма-кетликларининг такрорлари билан дуплекс ҳосил қилиб комплементар боғланади, хўжайин хужайраларнинг рибонуклеазаларидан бири -РНКаза III, cas9 иштирокида 5' учидан 20-нуклеотидли спейсер кетма-кетлигига эга бўлган етук crnA нинг ҳосил бўлиши билан дуплексни қирқади. Бутун локусга Mg<sup>2+</sup> ионлари иштирокида cas9 икки занжирли ажралиш киритади, бунда бу ферментнинг HnH нуклеаза домени crRNA га комплементар ДНК ипини қирқади ва RuvC -домени нокомплементар ипини қирқади. Cas9 *S. pyogenes* учун ДНК-нишон ўзида бевосита қирқиш амалга ошириладиган уч нуклеотиддан сўнг 5'-nGG-3' PAM ни тутмоғи лозим. II типининг Cas9 учун *S. thermophilus* ва *Neisseria meningitidis* нишонлари мос равишда бошқа консенсусга эга- 5'-nGGnG-3' ва 5'-nnnnGAtt-3'.

Геном муҳандислигининг умумий стратегияси сайт-специфик нуклеазалар ёрдамида тўрт асосий босқичдан иборат:

1. Геномда мақсадли нуклеотид кетма-кетлигини танлаб олиш.
2. Танлаб олинган нишонга йўналтирилган нуклеаза конструкциясини яратиш.
3. Ушбу конструкцияни хужайра ядросига киритиш.
4. Олинган мутацияларнинг таҳлили.

TALEN ва CRISPR/Cas9 технологиялари ёрдамида ишлаганда икки занжирли бўлинмаларни специфик киритиш учун сайтларни синчковлик билан танлаб олиш зарур. Дастлабки биоинформатик таҳлилларга кўра, геномга икки занжирли бўлинмаларни киритиш мақсадсиз эффектларнинг ҳам эҳтимоллиги борлиги билан тушунтирилади.<sup>1</sup>

Керакли сайтларни танлашда кетма-кетликларнинг такрорланишидан ва геномнинг бошқа районидаги юқори гомологияларидан қочиш талаб этилади.

TALEN химерик оксиллари тизимидан фойдаланилганда бир неча сабабларга кўра мақсадсиз эффектлари вужудга келади. Биринчидан, бу специфик нуклеотидлар ва RVD боғланишнинг эффективлигидаги фарқлардир. NN ва HD мономерлари нуклеотидлар билан кучли водород боғлар ҳосил қилади, бу вақтда NG ва NI – кучсиз шаклланади. Бу ДНК-танийдиган доменларни мақсадли сайтлардан бир неча нуклеотидларга фарқланувчи сайтлар билан боғланишига имкон бериши мумкин. Иккинчидан, коднинг туғма бўлгани учун мономерларнинг нуклеотидлар билан боғланиш эҳтимоллиги мавжуд, масалан, NG ва A ларнинг ўзаро боғланиши. Учинчидан, икки нуклеазаларнинг FokI доменлари бир хил ДНКга боғланувчи доменлари (гомодимерларнинг ҳосил бўлиши) билан димеризацияга учраши мумкин. Бу муаммо мажбурий гетеродимерлар сифатида ишловчи FokI доменларига эга TALEN тизимини яратиш орқали бир қатор ишларни амалга ошириш давомида ҳал этилган.<sup>2</sup> Эҳтимолли мақсадсиз эффектлар нуклеазалар таниш сайтлари орасидаги спейсер ДНКнинг хажми қайд этилмаганлиги натижасида содир бўлиши мумкин. Бу хусусият FokI доменлари димеризацияланиши учун етарли масофада жойлашган нуклеазаларнинг мақсадсиз сайтлар билан боғланишида икки занжирли бўшлиқ киритиш имконини беради.

S. pyogenes cas9 нуклеазалари 5'-NGG-3' консенсуси билан PAM ларнинг мажбурий иштирокини талаб этади, бунда кам миқдорда бўлса ҳам у нишонларни танлашни чеклайди. Хусусан, одам геномида мақсадли (нишон)

<sup>1</sup> Ma S, et al. Highly Efficient and Specific Genome Editing in Silkworm Using Custom TALENs. PLoS One. 2012;7:e45035.

<sup>2</sup> Lei Y, et al. Efficient targeted gene disruption in Xenopus embryos using engineered transcription activator-like effector nucleases (TALENs) Proc Natl Acad Sci U S A. 2012

сайтлар ҳар 8–12 н.ж. ларидан сўнг жойлашган бўлади. CRISPR/cas9 тизимининг асосий камчилиги – мақсадсиз мутациялар пайдо бўлишининг нисбатан юқори эҳтимоллигидадир. *In vitro*, бактерияларда ва одам хужайраларида олиб борилган тажрибаларда 20 нуклеотидли sgRNA (single guide RNA) ларнинг спейсер участкаларида баъзи бир нуклеотид алмашинувлари CRISPR/cas9 тизимининг сезиларли даражада фаоллигини сусайтиришга олиб келиши маълум қилинган, айниқса агар бу алмашинувлар sgRNA нинг сўнгги 10–12 нуклеотидлари 3'-охирларида жойлашган бўлса. Шу билан бир вақтда sgRNA нинг 5'-охирларидаги алмашинувлар тизимнинг фаолияти учун ҳеч қандай таъсир ўтказмайди. Аммо маълумки, агар sgRNA нинг 3'-охирларидаги бир ёки икки нуклеотидли алмашинувлар CRISPR/cas9 тизимининг фаолиятига таъсир этмайди, ва аксинча, агар 5'-охирларида жойлашган бўлса фаолиятга тўсқинлик қилади. Умуман олганда, мақсадсиз эффект cas9 учун 5'-охир нуклеотидларига нисбатан кам аҳамиятга эга кетма-кетликни йўналтирувчи 3'-охирларидаги –8–12 н.ж. алмашинувларнинг жойлашишлари бўйича аниқланади, бунда Cas9 и sgRNA ларга киритиладиган алмашинувлар ва айнан нишон-сайт хусусиятларининг концентрацияси ва миқдори учдан ошмаслиги лозим. Кўрсатилган камчиликларни енгиш cas9 ортологларини қўллашга асосланган усулларни қидириш ва ишлаб чиқишга имкон беради. Буларнинг фаоллигини таъминлаш учун мураккаб консенсус кетма-кетликка эга PAM зарур ҳисобланади. Масалан, II тип *N. meningitidis* CRISPR/cas PAM ларни 5'-NNNNGATT-3', консенсуси билан танийди, бу жараёнда нишон танлаш имкониятини чеклаб спецификликни ошириши мумкин.

CRISPR/cas тизимлари ёрдамида геномни таҳрирлаш спецификлигини ошириш мақсадида sgRNA жуфлиги (ZFN ва TALEN жуфтлик аналоглари сингари) билан икки Cas9 никазаларидан фойдаланилади. Ушбу sgRNA жуфлиги FokI доменлари билан фақат икки мустақил оқсилларнинг таъсири

асносида ДНКга бўшлиқ (парчалаш) киритади.<sup>1</sup> Бир каталитик фаол доменларнинг мутацияси (HNHда D10A ва RuvCда H840A) Cas9 нуклеазасини ДНК-никазага айлантиради. Агар ДНКнинг иккала занжирини Cas9 никаза жуфтлиги билан қирқилса сайт специфик икки занжирли бўшлиқлар ҳосил қилишга олиб келади, бу бўшлиқлар ДНК учларининг (охирлари) ногомологик (NHEJ- non-homologous end joining) тикилиши ёрдамида қайта жуфтлашади, бунда алоҳида бўлган бир занжирли парчаланишлар юқори эксцизия (BER-base excision repair) асосида самарали равишда қайта жуфтлашади. Икки Cas9 никазаларини sgRNA жуфтлиги билан қўллаш мақсадсиз мутацияларнинг ҳосил бўлишини сезиларли даражада камайтириши ва бу жараёнда мақсадсиз мутацияларнинг чиқиши бутунлай нуклеазаларнинг қўлланилишига боғлиқлиги кўрсатиб берилган.

Келтирилган CRISPR/ Cas9 ва TALEN тизимлари ёрдамида мақсадли (нишонли) сайтларни таниб олиш имкониятлари шу каби сайтларни қидиришда қўллаш учун компьютер алгоритмларини тузишда эътиборга олинган. Ҳозирда турли компаниялар томонидан яратилган онлайн дастурлаш таъминотлари мавжуд бўлиб, улар CRISPR/ Cas9 ва TALEN тизимларининг потенциал сайтларини танлаш, ҳамда эҳтимолли мақсадсиз эффектларни аниқлаш учун ҳам мўлжалланган. ДНКга боғланувчи домен деярли бир хил такрорлардан ташкил топган, шунинг учун TALEN ни экспрессия қилувчи генетик конструкция тузишда техник характерга эга муаммоларни ҳал этиш талаб этилади. Бу борада 20-30 ва ундан ортиқ мономерлардан иборат TALE ДНКга боғланувчи доменларини яратиш имконини берувчи бир қатор усуллар таклиф этилган. Ушба стратегиялардан бири ДНКни II типли рестрикция эндонуклеазалари ва лигирлаш-REAL (REstriction and Ligation) билан гидролизлаш орқали ДНКни стандарт клонлаштиришга асосланган.<sup>2</sup> Бунда биринчи босқичда 5'- ва 3'- охирларидан (учлари) рестрикция эндонуклеаза

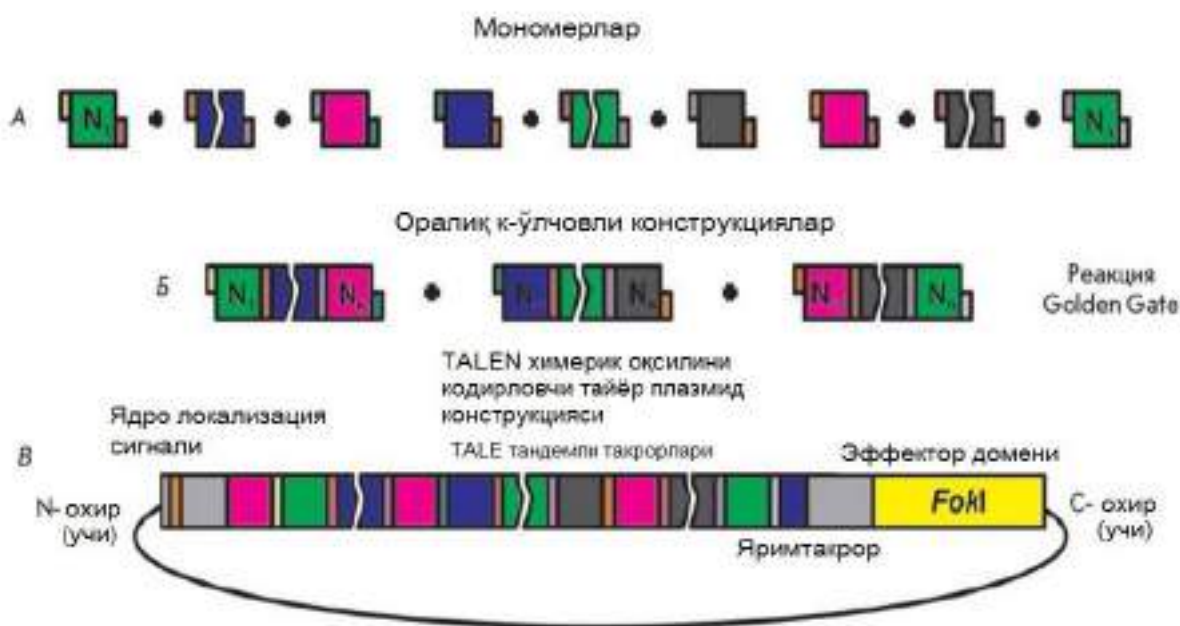
---

<sup>1</sup> Cermak T, et al. Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. *Nucleic Acids Res.* 2011;39:e82.

<sup>2</sup> Sander JD, et al. Targeted gene disruption in somatic zebrafish cells using engineered TALENs. *Nat Biotechnol.* 2011;29:697–698.

сайтлари киритилган мономерлар кутубхонаси тайёрланади. ДНК гидролизидан сўнг жуфтликдаги лигирлаш жараёнлари ўтказилади ва бунинг натижасида димерлар ( $N_1N_2$ ,  $N_3N_4$ ,  $N_{2k-1}N_{2k}$ ) ҳосил бўлади, булар кейинчалик тетрамерларга бирлашади. Бунда тўғри кетма-кетликка турли рестрикция эндонуклеазаларини қўллаш орқали эришилади. Бу усул мураккаб ва узоқ вақт талаб этади, ҳар бир босқичда реакция маҳсулотларини тозалаш ҳамда йўналишнинг тўғрилигини тасдиқлаб бориш ҳам талаб этилади. Бу жараёнларни тезлаштириш мақсадида моно-, ди-, три- ва тетрамерларни ўз ичига олган 376 элементлардан иборат кутубхона яратилган.

Эффективликни ошириш ва йиғиш жараёнларини тезлаштириш мақсадида Golden Gate реакцияси қўлланилади, бу бир реакция аралашмасида бир вақтнинг ўзида лигирлаш ва рестрикция эндонуклеазалари ёрдамида гидролизлаш имконини беради (3-расм).



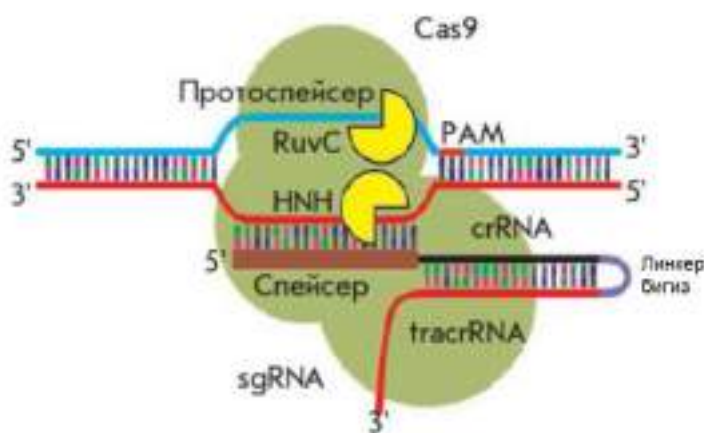
**3-расм.** TALEN химерик оксилларини экспрессияловчи генетик конструкцияларни яратиш учун Golden Gate клонлаш тизими асосида модулли иерархик лигирлаш стратегиясининг схемаси. А- биринчи босқичда деталлар тўпламидан иборат ўзига хос “конструктор”ни тақдим этувчи мономерлар кутубхонаси яратилади. Ушбу деталлар- специфик олигонуклеотид праймерлар ёрдамида амплификация қилинган мономерларнинг кетма-кетликларидир. праймерлар шу тарзда тузиладики, PIS типли эндонуклеаза рестрикцияларининг гидролизи натижасида ёпишқоқ учлар ҳосил бўлиши зарур, бу ёпишқоқ учлар тайёр конструкцияда мономер позициясини (жойлашувини) аниқлаб беради. Б- бир Golden Gate реакциясида бир вақтнинг ўзида бир неча мономерларни лигирлаш имконияти бор, буларнинг натижасида оралиқ к-ўлчовли конструкциялар олинади. В- сўнгги босқичда Golden Gate реакцияси ўтказилади, бунинг натижасида бир неча оралиқ к-ўлчовли конструкцияларнинг ва TALEN нинг қолган элементларини ўзида тутган “асос” плазмидаларнинг рестрикция ва лигирлаш ҳодисаси содир бўлади.

In vitro шароитларда ва бактерия хужайраларида CRISPR/ Cas9 ёрдамида ДНКни қирқиш учун қуйидаги компонентлар талаб этилади ва етарли ҳисобланади: кодирламайдиган РНК tracrRNA ва pre-crRNA, РНКаза III ва Cas9 оқили. Ушбу тизимни сут эмизувчилар хужайраларида қўллаш бир қатор афзалликларни беради.

Биринчидан, SpCase9 (Cas9 *S. pyogenes*) нуклеазаси кодонлар томонидан оптималлаштирилган юқори эукариотлар хужайрасидаги транскрипция жараёнига мослашиши зарур ҳамда ядро компартиментализациясини таъминлаш учун ядро локализацияси сигналларини бирлаштириш лозим (NLS- nuclear localization signal). Икки NLS Cas9 ни ядрога самарали (эффектив) йўналтириш учун етарлидир.

Иккинчидан, эукариот хужайраларда pre-crRNA ларни тайёр бўлиши учун экзоген РНКаза III киритилиши талаб этилмайди, чунки бу вазифани ўз хужайра РНКазалари самарали амалга оширади.

Учинчидан, кодирламайдиган икки РНК ўрнига кўпинча ягона химерик sgRNA киритилади, бунда синтетик структура “бигиз-асос” ёрдамида табиий crRNA-tracrRNA дуплексларни ўрнини босиш мақсадида етук crRNA tracrRNA қисми билан бирлашган бўлади (4-расм). sgRNA транскрипцияси учун мос келувчи промотор талаб этилади, масалан РНК-полимераза III алоқадор U6- промотори.



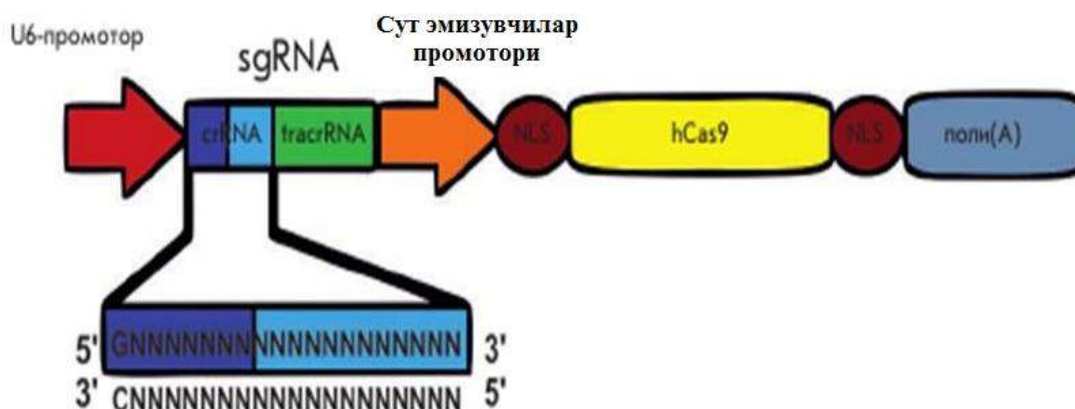
**4-расм.** Мақсадли (нишонли) локусларга икки занжирли бўшлиқ киритиш учун ягона химерик sgRNA. SgRNA мажмуаси ва Cas9 ДНКнинг танланган сайтларига икки занжирли бўшлиқ киритиш имкониятига эга. SgRNA- сунъий яратилган конструкция бўлиб у ўзи билан РНК нинг бир молекуласига бирлашган CRISPR/Cas9: crRNA-tracrRNA тизимининг элементларини тақдим этади. Протоспейсер - CRISPR/Cas9 тизими танийдиган сайт. Спейсер – sgRNA таркибидаги кетма-кетлик бўлиб, мақсадли сайтнинг ўзаро

комплементар боғланиш принципи бўйича боғланишига жавоб беради. RuvC ва HNH – каталитик доменлар бўлиб, ДНК занжирларининг мақсадли сайтларида икки занжирли бўшлиқ киритади. PAM – қисқа мотив (NGG- CRISPR/Cas9 шароитида), унинг мавжудлиги протоспейсернинг 3'-охиридан (учидан) икки занжирли бўшлиқ киритиш талаб этилади.



Фенг Занг (Feng Zhang) лабораториясида дастлабки плазмида конструкциялари яратилган бўлиб бу конструкция CRISPR/Cas9 ишлаши учун талаб этиладиган элементларидан ташкил топган. PX260/pX334 плазмидалари таркибида уч экспрессияловчи кассеталар мавжуд бўлиб булар; Cas9-нуклеаза/никаза, CRISPR РНК-матрицаси ва tracrRNA (5-расм). Нишон- кетма-кетлигини ўзгартириш учун бу конструкциядан фақатгина дастлабки 30-нуклеотидли йўналтирувчи изчилликни кесиб олиш талаб этилади. Бу изчилликлар BbsI фланкирланган сайтлар ҳисобланиб, уни сунъий синтез қилинган изчилликлар билан алмаштирилади. Ушбу жараёни амалга ошириш учун мақсадли кетма-кетликка комплементар ва мос равишда ёпишқоқ учларни ўзида тутган 30-аззоли олигонуклеотидлар бирга эриб ва плазмидага лигирланади.

PX330/pX335 плазмидалари икки экспрессияловчи кассеталарни ўзида тутди: Cas9-нуклеаза/никаза, 85-нуклеотидли tracrRNA ни ўз ичига олган химерик sgRNA. Йўналтирувчи кетма-кетликни алмаштириш принципи ўзгармаган, лекин унинг узунлиги қисқа – 20 нуклеотид, бунда 20-м гуанин бўлиши керак, ҳамда иб-промотор бу асосни транскрипция бошланиш нуқтасида ушлайди. Бундан ташқари бу плазмидаларга 2A-GFP ёки 2A-Puro сайтлари каби қўшимча элементлар киритилиши мумкин, буларнинг вазифаси - плазмидаларни ўзида тутган хужайраларни кейинчалик селекция қилишдан иборат.



**5-расм.** CRISPR/Cas9 тизимлари элементларини экспрессияловчи генетик конструкция схемаси. hCas9 – эукариот хужайраларда экспрессия қилиш учун оптималлаштирилган Cas9 оқсилнинг кетма-кетлиги. sgRNA- фаол бўлиш учун crRNA ва tracrRNA қисмаларини ўзида тутган ягона химерик РНК. NLS – ядро локализацияси сигнали, унинг вазифаси конструкцияларни ядрога тушишини таъминлашдан иборат. Поли (А) – полиаденилланиш сигнали.

Одам, сичқон ва бошқа организмлар хужайра культураларининг трансформацияси учун кўпинча плазмидалардан фойдаланилади, бу плазмидалар cas9 ва *in vitro* sgRNA нуклеазаларнинг ишлаб чиқарилишини таъминлайди. Бутун организм трансформацияси учун Cas9 мРНК ларига ва бир хужайрали эмбрионларнинг sgRNA ларига микроинъекция махсус усуллари ишлаб чиқилган. Бу усул сичқон, данио (*Danio rerio*) ва дрозофилаларда фаол қўлланилади. Кенг қамровдаги ген нокаути учун sgRNAларнинг катта кутубхоналаридан фойдаланиб лентивирус векторлар қўлланилади. Хужайралари зич хужайра деворига эга ўсимликларда протопластларнинг плазида трансформация усули ҳамда *Agrobacterium tumefaciens* ёрдамидаги агроинфилтрация усули қўлланилади.

### 1.3. Геном мухандислигида TALEN ва CRISPR/Cas қўлланилиши.

TALEN ва CRISPR/Cas9 тизимларини яратиш геном мухандислигининг ривожланишида муҳим босқичлардан ҳисобланади. Бу тизимларнинг яратилиши, уларнинг арзон ва содда тузилиши фундаментал ва шу қаторда амалий фанларнинг ривожланишига кучли туртки берди. Бу технологияларни озиқ-овқат, қишлоқ хўжалиги ва тиббиёт каби турли соҳаларда қўлланилиши ҳақиқатдан ҳам хайратланарли ютуқларга сабаб бўлмоқда.

Нуклеаза	Объект	Ген	Қўлланиши
TALEN	Одам хужайралари (Homo sapiens)	ccr5, akt2, e17k, angptl3, apob, atgl, cborf106, celsr2, cftr, ciita, foxo1, foxo3, gli1, glut4, hbb, hdac1, hdac2, hdac6, hmga2, hoxa13, hoxa9, hoxc13, hpvt, il2rg, jak2, kras, linc00116, maoa, map2k4, mdm2, met, mlh1, msh2, mutyh, myc, mycl1, mycn, nbn, ncor1, ncor2, nlr5, ntf3, pdgfra, pdgfrb, phf8, plin1, pms2, ppp1r12c (aavs1), ptch1, pten, rara, rbbp5, recql4, ret, runx1, sdhb, sdhc, sdhd, setdb1, sirt6, smad2, sort1, sox2, klf4ss18, suz12, tfe3, tp53, trib1, tsc2, ttn, vhl, xpa, xpc, abl1, alk, apc, atm, axin2, bax, bcl6, bmpr1a, brca1, brca2, cbx3, cbx8, ccnd1, cdc73, cdk4, cdh4, chd7, cttnb1, cyld, ddb2, ercc2, ewsr1, ext1, ext2, ezh2, fanca, fanc, fancf, fancg, fes, fgfr1, fh, flcn, flt4, mstn, aavs2, oct4, pitx3	нокаут, киритиш
	Ачитки (Saccharomyces cerevisiae)	URA3, ADE2, LYS3	нокаут, киритиш
	Нематода (Caenorhabditis elegans)	ben-1, tex-1, sdc-2	нокаут
	Дрозофила (Drosophila melanogaster)	yellow, crhdr1, ponzr1, bmil, cdh5, dip2a, elmo1, epas1b, fh, golden, gria3, hey2, hif1ab, ikzf1, jak3, moesina, myod, phf6, ppp1cab, ryr1a, ryr3, scl6a3, tbx6, tnkb, th, fam46c, smad5	нокаут, киритиш
	Ипак қурти (Bombyx mori)	blos2	нокаут
	Чигиртка (Gryllus bimaculatus)	lac2	нокаут
	Қурбақа (Xenopus tropicalis)	ets1, foxd3, grp78/bip, hhex, noggin, ptf1a/p48, sox9, vpp1	нокаут
	Сичқон (Mus musculus)	c9orf72, fus, lepr, pak1ip1, gpr55, rprm, fbxo6, smurf1, tmem74, wdr20a, dcaf13, fam73a, mlkl, mstn, pibf1, sepw1, rab38, zic2	нокаут, киритиш
	Каламуш (Rattus norvegicus)	bmpr2, IgM	нокаут
	Чўчка (Sus scrofa)	amely, dmd, gdf8, ggta, ghdrhdr, il2rg, ldlr, rag2, rela (p65), sry	нокаут
	Сигир (Bos taurus)	acan, gdf8, ggta, mstn, prnp	нокаут
	Арабидопсис (Arabidopsis thaliana)	adh1	нокаут
	Тамаки (Nicotiana benthamiana)	surA, surB, hax3	нокаут, киритиш
	Тороёқ ўти (Brachypodium distachyon)	aba1, cxx2, coi1, hta1, rht, sbp, smc6, spl	нокаут

	Шоли ( <i>Oryza sativa</i> )	avrxa7, pthxo3, badh2, cckx2, dep1, sd1	нокаут
CRISPR / Cas	Ачитки ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	CAN1, ADE2	нокаут, киритиш
	Одам хужайралари ( <i>Homo sapiens</i> )	dnmt3b-tdTomato, pou5f1(oct4), emx1, dyrk1a, grin2b, egfp, ccr5, c4bpb, pvalb, aavs, akt2, celsr2, ciita, glut4, linc00116, sort1, ldlr	киритиш
	Нематода ( <i>Caenorhabditis elegans</i> )	dpy-11, unc-4, ben-1, unc-36, daf-2, klp-12, lab-1, egfp, dpy-11, lin-5, rol-1, dpy-3, unc-1, dpy-13, unc-119, klp-12	нокаут, киритиш
	Дрозофила ( <i>Drosophila melanogaster</i> )	yellow, white, rosy, cg14251 (k81), cg3708cg17629 (kl-3), light	нокаут, киритиш
	Данио ( <i>Danio rerio</i> )	etsrp, gata5, etsrp, gsk3b, apoea, fh, fh1, th1, rgs4, tia11, tph1a, drd3, egfp, tyr, gol, mitfa, ddx19, sema3fb, dre-mir-126a, dre-mir-126b, dre-mir-17a-1–dre-mir-92a-1, dre-mir-17a-2–dre-mir-92a-2, fgd5, ensdarg00000070653, ensdarg00000076787, psmf1, dre-mir-126a, dre-mir-17a-2, dre-mir-92a-2, tardbp, tardbpl, c13h9orf72	нокаут, киритиш  , хромосо мада қайта- қуриш
	Курбақа ( <i>Xenopus tropicalis</i> )	tyr, six3	нокаут
	Чўчка ( <i>Sus scrofa</i> )	gdf8, p65	нокаут, киритиш
	Сичқон ( <i>Mus musculus</i> )	tet1, tet2, tet3, sry, uty, rosa26, hpvt, egfp, th, rheb, uhrf2	нокаут, киритиш
	Каламуш ( <i>Rattus norvegicus</i> )	dnmt1, dnmt3a, dnmt3b, tet1, tet2, tet3, mc3r, mc4r	нокаут, киритиш
	Арабидопсис ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )	pds33, fls2, bri1, jaz1, gaj, chl, chl2, 5g13930	нокаут, киритиш
	Тамаки ( <i>Nicotiana benthamiana</i> )	pds	нокаут, киритиш
	Шоли ( <i>Oryza sativa</i> )	ods, badh2, mrk2, 02g2s3w8e2e3t, 1r1o, cs5w, eseptp1,4 ysa, myb1, cao1, lazy1	нокаут, киритиш
	Буғдой ( <i>Triticum aestivum</i> )	mlo	нокаут

Аmmo ҳозиргача уларнинг қўлланиши бўйича специфик ва ҳавфсизлигига боғлиқ (ножўя таъсирлари эҳтимоллиги туфайли) бир неча муаммолар очиклигича қолмоқда, масалан, даволашда қўллаш учун организмга қандай киритиш мумкинлиги ва ушбу тизимлардан қайси бири самарали ва ҳавфсиз деган саволлар ҳанузгача очиклигича қолмоқда.

CRISPR/Cas9 технологияси ZFN ва TALEN усуллариға нисбатан бир қанча афзалликларға эга, яъни уни яратиш бир мунча осон ва юқори

самарадор бўлиб, турли хужайра линиялари ва организмлари геномларида юқори ишлаб чиқариш ва кўп тармоқли таҳрирлаш имкониятига эга.<sup>1,2</sup>

Бугунги кунда технологияларнинг қайси бирини қўллаш кераклиги бўйича аниқ жавоблар мавжуд эмас. Бу технологияларни жуда яхши тушиниб баҳолаш учун уларни ўз афзалликларига эга кичик деталларигача бир-бирига солиштириб ўрганиш талаб этилади. Шунда ҳам бу саволларга универсал жавоб топиш имкони бўлади дейиш қийин ҳамда ҳар бир конкрет жараён учун турли ҳил вариантларни қўллаш ва уларнинг ичидан мақсад мувофиқларини танлаб олиш керак бўлади.

### **Назорат саволлари:**

1. Геномни таҳрирлаш имконини берувчи қанақа технологиялар мавжуд?
2. Zinc Finger технологияси ҳақида гапириб беринг?
3. TALEN технологияси тўғрисида нималарни биласиз?
4. TALEN технологиясининг ишлаш механизми қанақа?
5. CRISPR технологиясининг мазмун-моҳияти қандай?
6. CRISPR технологиясининг ишлаш механизми қанақа?
7. Геномни таҳрирлаш технологияларининг афзалликлари ва камчиликлари нималардан иборат?
8. Геномни таҳрирлаш технологияларини қайси соҳаларда қўллаш мумкин?
9. Сунъий тузилган геном конструкцияларини организмга киритишнинг қандай усулларини биласиз?
10. Ҳозирги кунда дунё илм-фанида геномни таҳрирлаш технологиялари асосида қанақа тадқиқотлар амалга оширилмоқда (оширилган), нималарга эришилмоқда ва бу ҳақда омманинг фикри қанақа?

### **Фойдаланилган адабиётлар:**

1. Capecchi MR. // Gene targeting in mice: functional analysis of the mammalian genome for the twenty-first century. Nat Rev Genet. 2005 Jun;6(6):507-512.
2. Kim Y.G., Cha J., Chandrasegaran S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. № 3. P. 1156–1160.

---

<sup>1</sup> Watanabe T, et al. Non-transgenic genome modifications in a hemimetabolous insect using zinc-finger and TAL effector nucleases. Nat Commun. 2012;3:1017.

<sup>2</sup> Zhan-Qi Dong et. al // Establishment of a highly efficient virus-inducible CRISPR/Cas9 system in insect cells. // Antiviral Research, 2016. 130, 50-57.

## IV. АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАР МАТЕРИАЛЛАРИ

### 1-амалий машғулот:

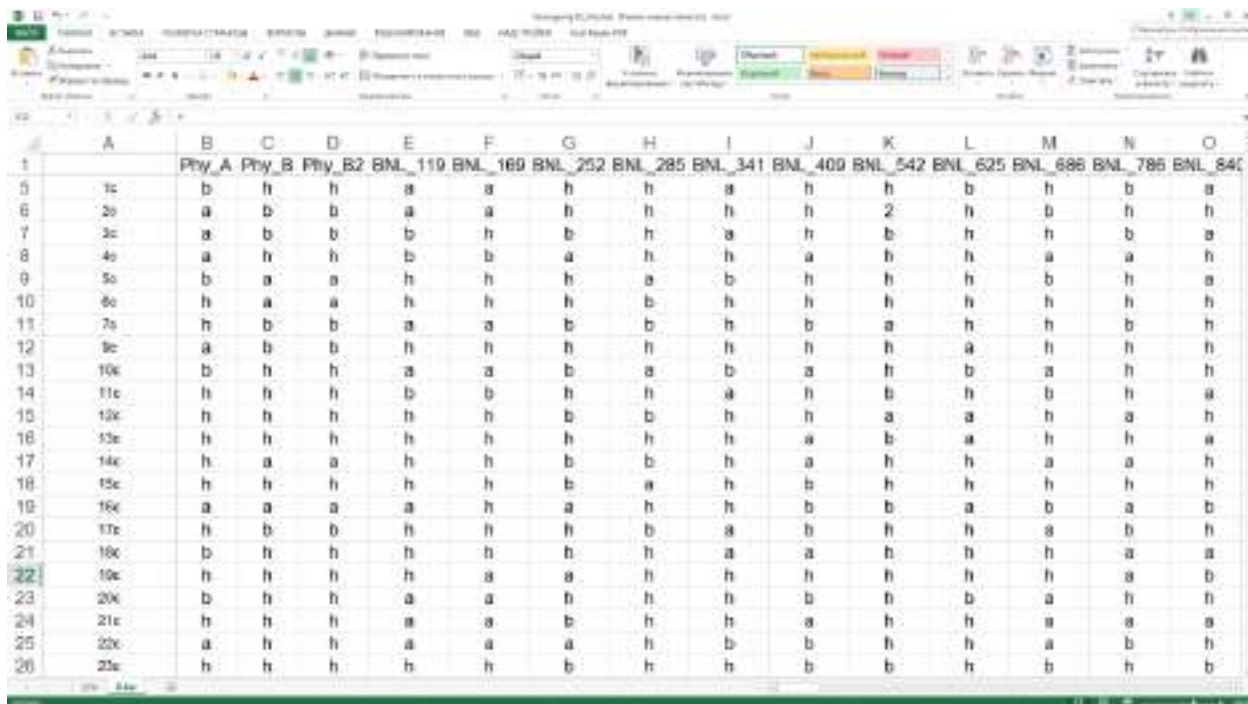
#### Геномларни карталаштириш.

**Ишдан мақсад:** Геномларни карталаштиришда фойдаланиладиган ДНК маркерлари билан танишиш. Генетик бирикканлик карталарини тузиш дастури JoinMap 3.0 дастурий таъминоти ишлаш принципи билан танишиш. Ассоциацион карталаштириш ва уларнинг турлари LD (Linkage Disequilibrium), QTL (quantitative trait locus) ҳамда NAM (Nested Association Mapping) усуллари иш принциплари билан танишиш.

**Масаланинг қўйилиши:** Тингловчи амалий машғулотда келтирилган вазибаларни бажариши, таҳлил қилиши ва натижа олиши лозим.

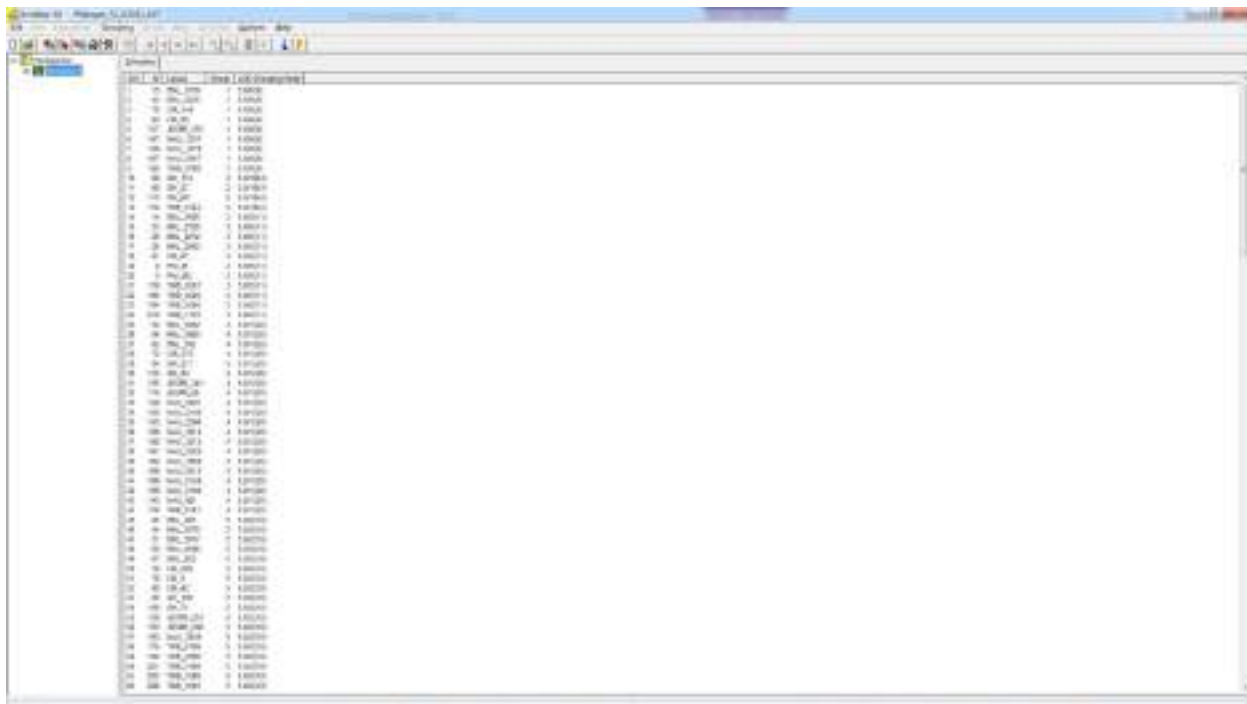
#### Ишни бажариш учун намуна.

**1-вазифа.** ДНК маркерлари ёрдамида ПЗР скрининг қилинган маълумотдан фойдаланиб бир авлодга тегишли бўлган индивидларни генотипик баҳоланг ва Microsoft Exel дастури ёрдамида кодланг.

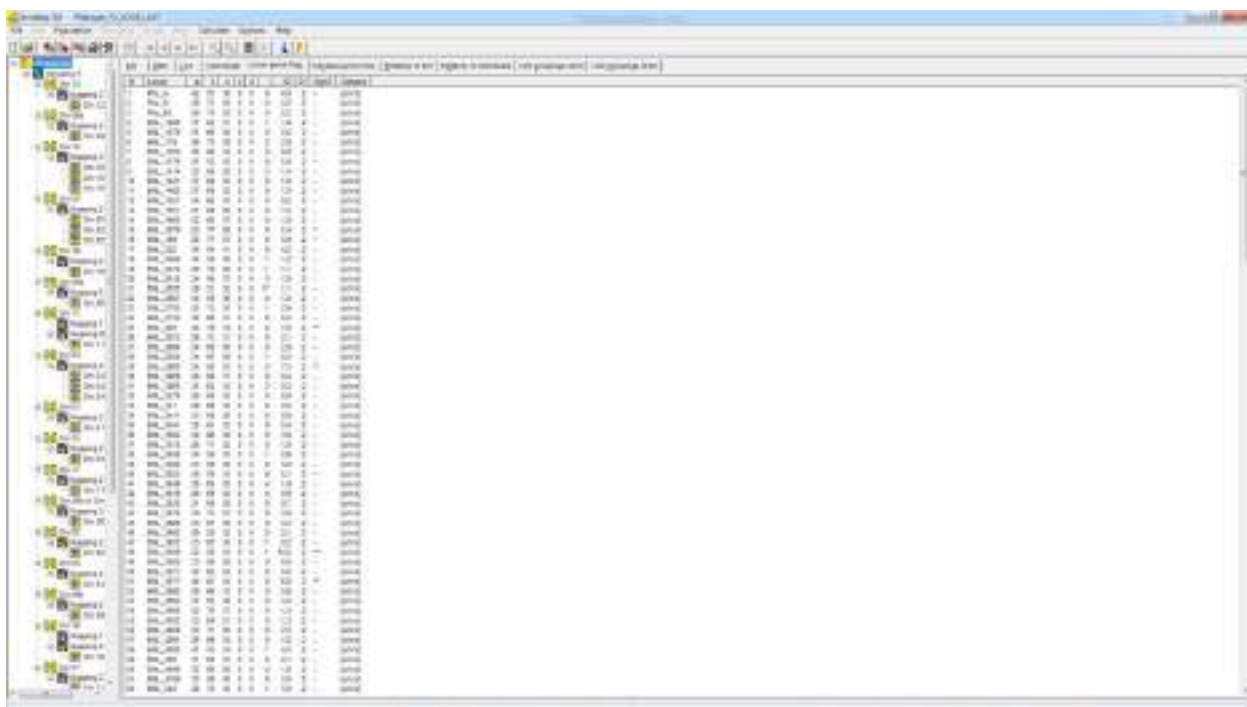


	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1		Phy_A	Phy_B	Phy_B2	BNL_110	BNL_169	BNL_252	BNL_285	BNL_341	BNL_409	BNL_542	BNL_625	BNL_688	BNL_786	BNL_840
5	1c	b	h	h	a	a	h	h	a	h	h	b	h	b	a
6	2a	a	b	b	a	a	h	h	h	h	2	h	b	h	h
7	3c	a	b	b	b	h	b	h	a	h	b	h	h	b	a
8	4a	a	h	h	b	b	a	h	h	a	h	h	a	a	h
9	5a	b	a	a	h	h	h	a	b	h	h	h	b	h	a
10	6a	h	a	a	h	h	h	b	h	h	h	h	h	h	h
11	7a	h	b	b	a	a	b	b	h	b	a	h	h	b	h
12	9c	a	b	b	h	h	h	h	h	h	h	a	h	h	h
13	10a	b	h	h	a	a	b	a	b	a	h	b	a	h	h
14	11c	h	h	h	b	b	h	h	a	h	b	h	b	h	a
15	12a	h	h	h	h	h	b	b	h	h	a	a	h	a	h
18	13a	h	h	h	h	h	h	h	h	a	b	a	h	h	a
17	14a	h	a	a	h	h	b	b	h	a	h	h	a	a	h
18	15a	h	h	h	h	h	b	a	h	b	h	h	h	h	h
19	16a	a	a	a	a	h	a	h	h	b	b	a	b	a	b
20	17a	h	b	b	h	h	h	b	a	b	h	h	a	b	h
21	18a	b	h	h	h	h	h	h	a	a	h	h	h	a	a
22	19a	h	h	h	h	a	a	h	h	h	h	h	h	a	b
23	20a	b	h	h	a	a	h	h	h	b	h	b	a	h	h
24	21a	h	h	h	a	a	b	h	h	a	h	h	a	a	a
25	22a	a	h	h	a	a	a	h	b	b	h	h	a	b	h
26	23a	h	h	h	h	h	b	h	h	b	b	h	b	h	b

**2-вазифа.** JoinMar 3.0 дастурида янги лойиха яратиб унга кодланган маълумот киритилган файлни юкланг.



*3-вазифа. Ҳар хил алгоритмлар бўйича калкуляциялар ўтказинг.*



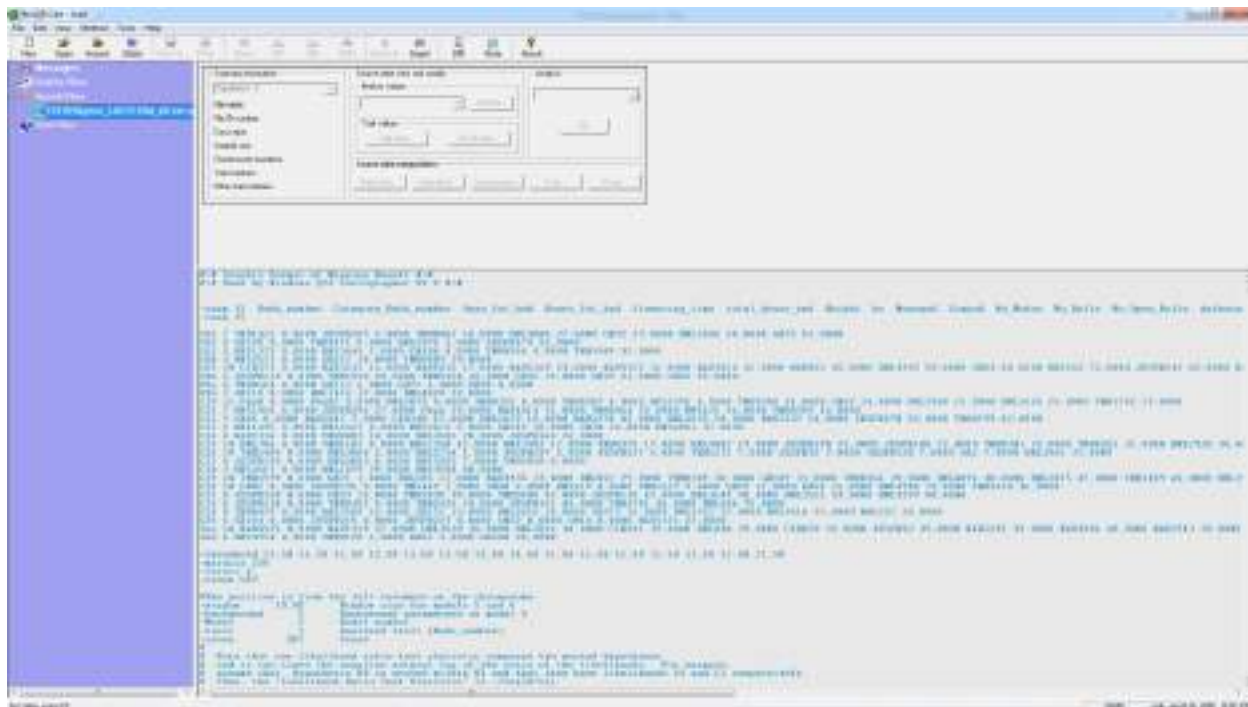




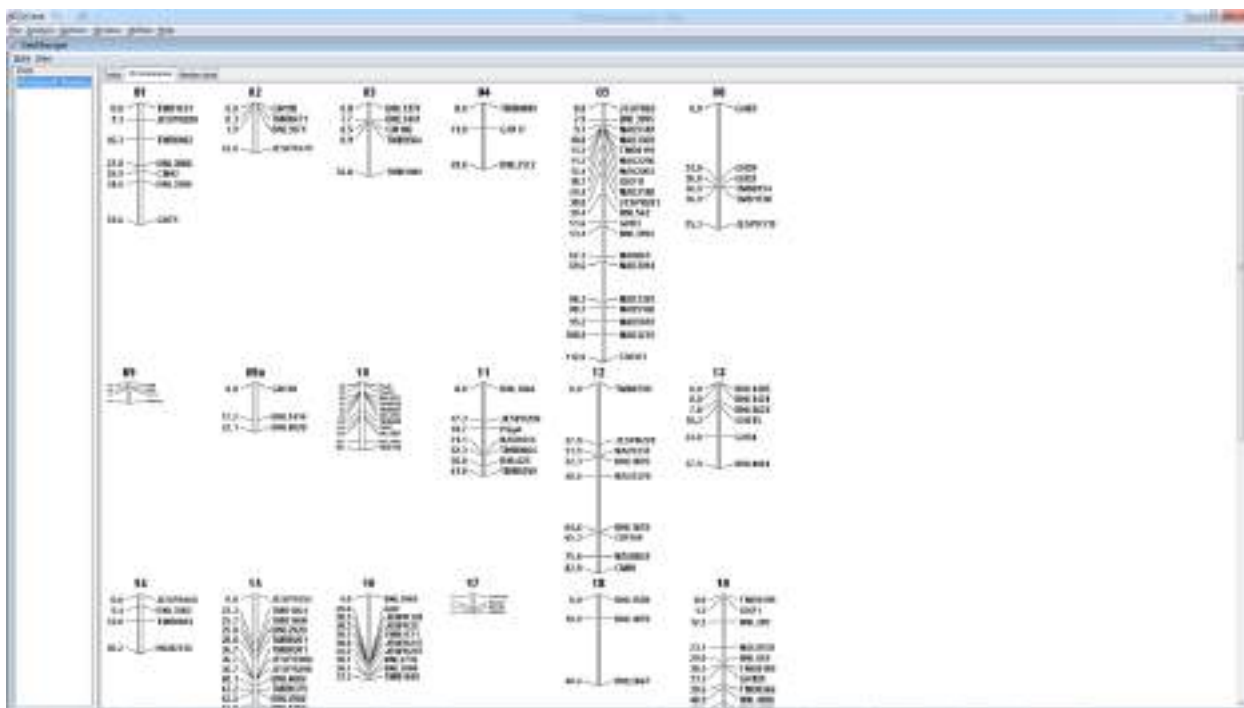
**5-вазифа.** Энди юқорида фойдаланилган индивидлар фенотипик хусусиятлари бўйича (тажриба дафтаридан фойдаланиб) фенотипик баҳоланг ва Microsoft Excel дастури ёрдамида кодланг.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	
6	1с	120	17	10	10	26	я	4-5	2/0	предп	1	сред	сред	раск		
7	2с	140	7	5	36	42	я	4-5	3/1	не пред	1-2	сред	сред	раск		
8	3с	30								не развивался						
9	4с	110	10	6	18					Опадение плодородия		не пред	2-3	слаб	голый	раск
10	5с	200	10	-	36	45	я	4-5	26/1	не пред	2	сильн	голый	раск		
11	6с	100		вильна												
12	7с	140	10	4	26	35	я	4-5	7/0	не пред	1-2	сильн		раск		
13	9с	170	13	4	22	34	я	4-5	8/0	не пред	1-2	сильн	голый	раск		
14	10с	190	8	4	36	43	я	4-5	8/0	не пред	2-3	сильн	голый	раск		
15	11с	130	27	4	3	29	-	-	-	не пред	2	слаб	слаб	раск		
16	12с	110	8	-	26	33		3	1/0	не пред	1	слаб	голый	раск		
17	13с	90	7	3	16	22	ш	4-5	18/2	не пред	1	сред	слаб	раск		
18	14с	150	6	-	36	41	я	4-5	14/0	не пред	1	слаб	слаб	раск		
19	15с	80	7	-	22	28	я	4-5	10/2	не пред	1-2	слаб	голый	раск		
20	16с	100	5	2	24	28	я	4-5	8/1	не пред	1-2	слаб	голый	раск		
21	17с	90	6	5	14	19	я	3-4-5	12/5	не пред	2	сред	голый	раск		
22	18с	180	5	3	40	44				Опадение плодородия		сильн	голый	раск		
23	19с	190	25	6	22	46	я	4-5	5/0	не пред	1	сред	голый	раск		
24	20с	170	8	5	26	33	я	4-5	6/0	не пред	1	слаб	голый	раск		
25	21с	50								не развивался						
26	22с	160	7	1	36	42	я	4-5	8/1	не пред	1-2	сред	сильн	раск		

**6-вазифа.** WinQTL Cartographer 2.5 дастурида янги лойиха яратиб унга JoinMap 3.0 дастурий таъминоти натижасида яратилган файлни ва кодланган фенотипик маълумот киритилган файлни юкланг.



**7-вазифа.** Энди 6-вазифа бўйича тажрибаларни QGene 4.3.10 дастурида бажаринг. QGene 4.3.10 да янги лойиҳа яратиб унга JoinMap 3.0 дастурий таъминоти натижасида яратилган файлни ва кодланган фенотипик маълумот киритилган файлни юкланг. Бирикканлик карталарини текшириб олинг.



### Назорат саволлари:

1. Карталаштириш ҳақида нималарни биласиз?
2. Бирикканлик карталари деганда нимани тушунаси?
3. Геном карталари нималар ҳақида маълумотлар беради?
4. QTL карталаштиришда фойдаланиладиган қандай биоинформатик дастурларни биласиз?

### Фойдаланилган адабиётлар:

1. Miles, C; Wayne, M (2008). "Quantitative trait locus (QTL) analysis". Nature Education (1.1).
2. Ricki Lewis (2003), Multifactorial Traits, McGraw-Hill Higher Education.
3. Proud, Virginia & Roberts, Helen (31 December 2005). "Medical Genetics: Multifactorial Inheritance". Children's Hospital of the King's Daughters. Retrieved 6 January 2007.
4. "Multifactorial Inheritance". Pregnancy and Newborn Health Education Centre. The March of Dimes. Archived from the original on 2 November 2006. Retrieved November 12, 2014.
5. Emery's Elements of Medical Genetics
6. Tissot, Robert. "Human Genetics for 1st Year Students: Multifactorial Inheritance". Retrieved 6 January 2007.

## 2-Амалий машғулот.

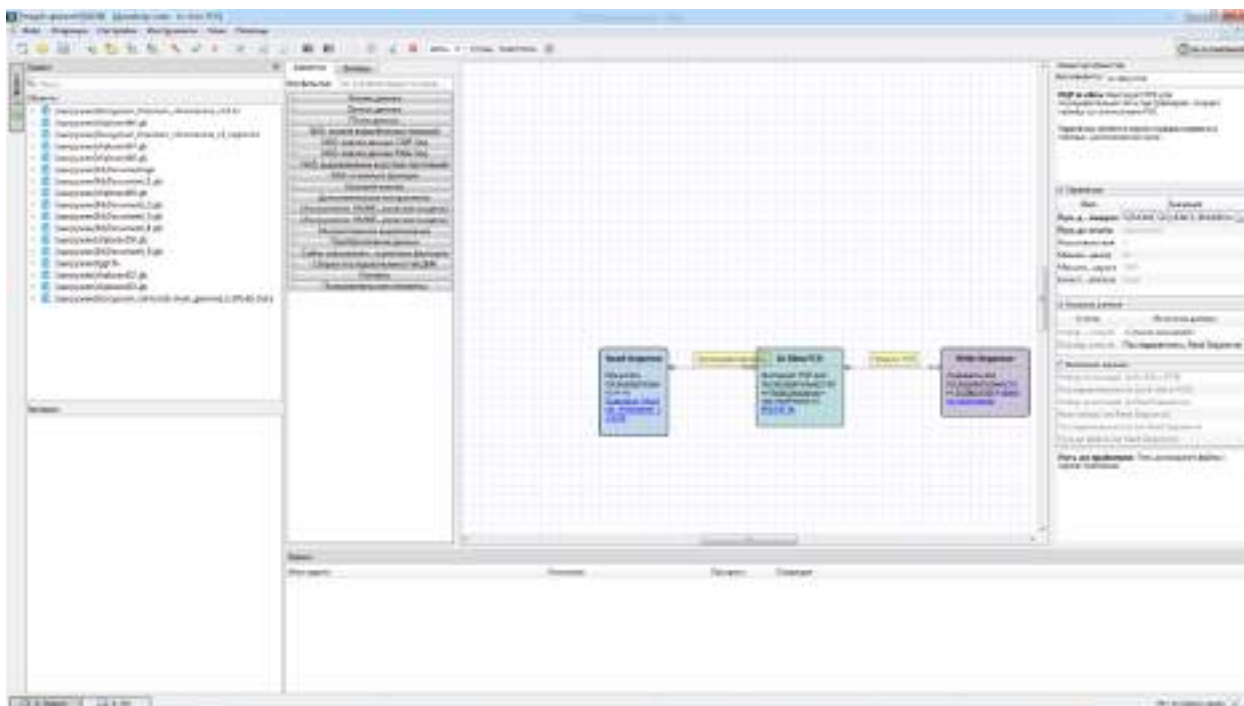
### Маълумотлар базаси ва улардан фойдаланиш.

**Ишдан мақсад:** Нуклеотид кетма-кетликлар маълумотлар базаси (EMBL, DDBJ, NCBI, UniGene, STACK, EMBL-SVA) ресурслари билан танишиш. Геном маълумотлар базаси (Genomes Server, Proteome Analysis, Ensembl) ресурслари билан танишиш. Оқсил кетма-кетликлари маълумотлар базаси ҳамда аминокислота кетма-кетликлари маълумотлар базаси (UniProtKB/Swiss-Prot, GOA, ENZYME) ресурслари билан танишиш. NCBI маълумотлар базаси BLAST таҳлили ва Ugene 1.21.0 дастурий таъминотидан фойдаланиб генларни анотация қилишни ўрганиш.

**Масаланинг қўйилиши:** Тингловчи амалий машғулотда келтирилган вазифаларни бажариши, таҳлил қилиши ва натижа олиши лозим.

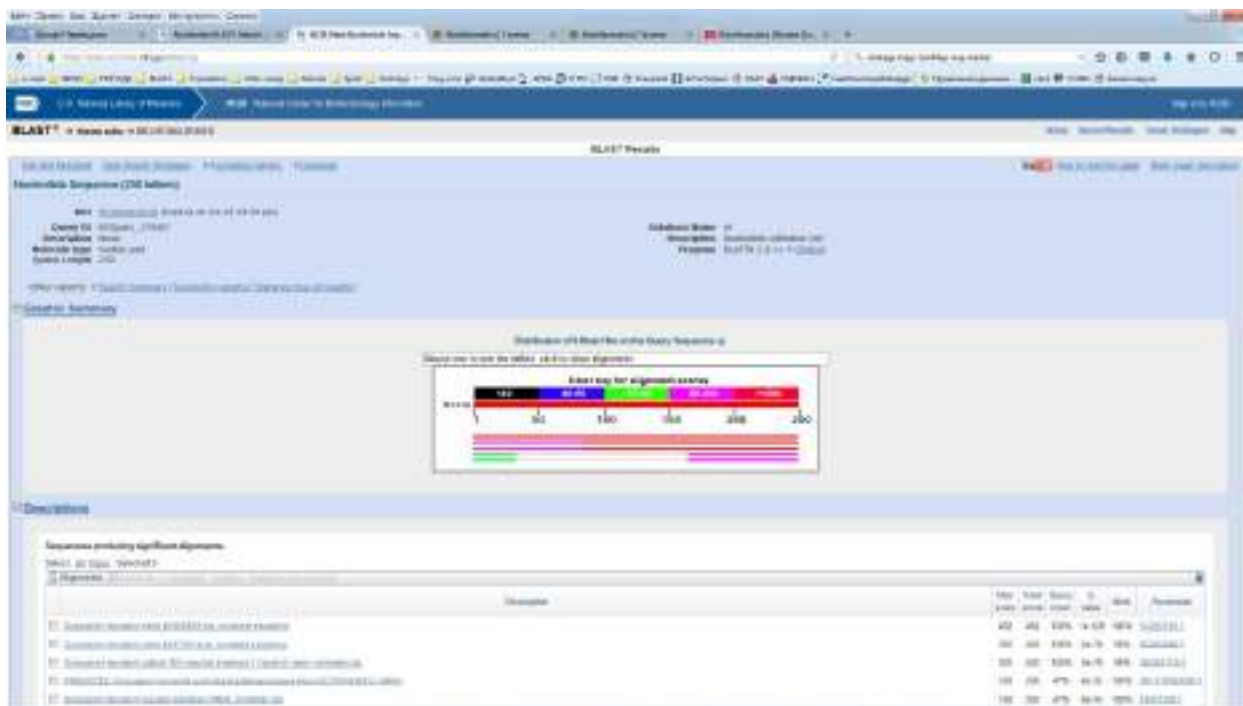
### Ишни бажариш учун намуна.

**1-вазифа.** 1-амалий машғулот натижасида аниқланган QTL маркерининг *G.hirsutum* ғўза тури тўлиқ геномидан фойдаланиб In silico PCR алгоритми билан Ugene 1.21.0 дастурида тегишли ДНК кетма-кетлигини аниқланг.

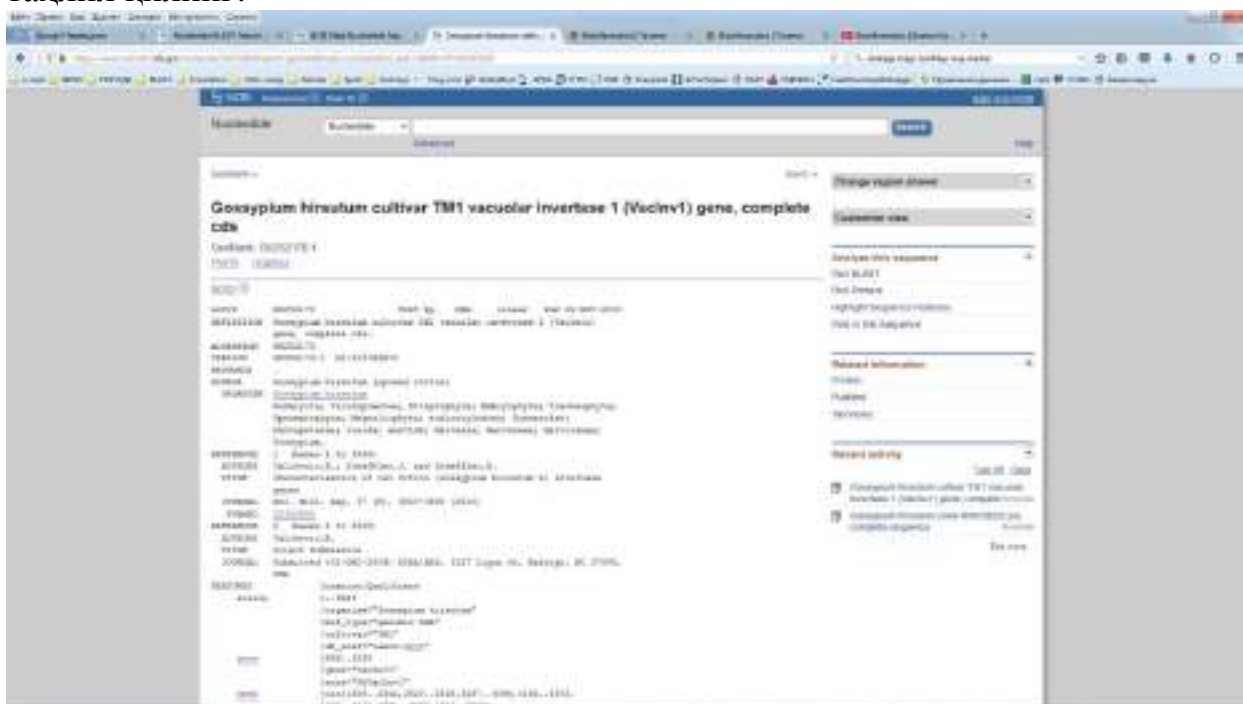




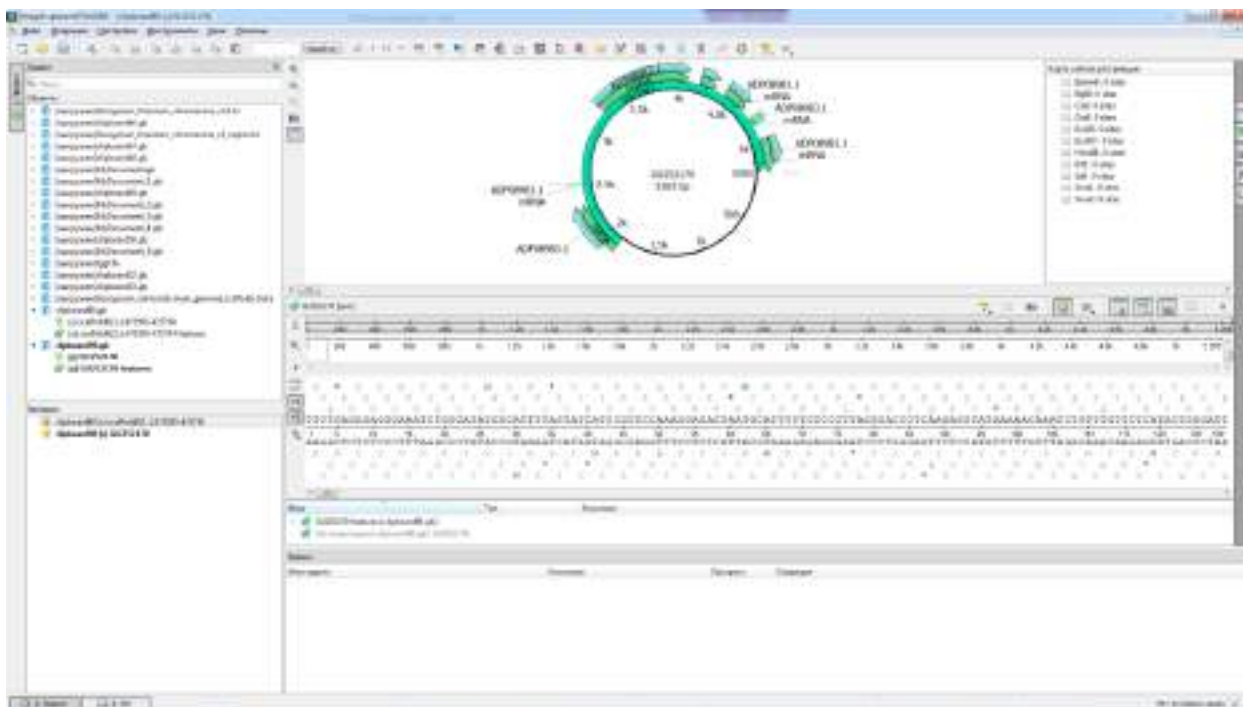
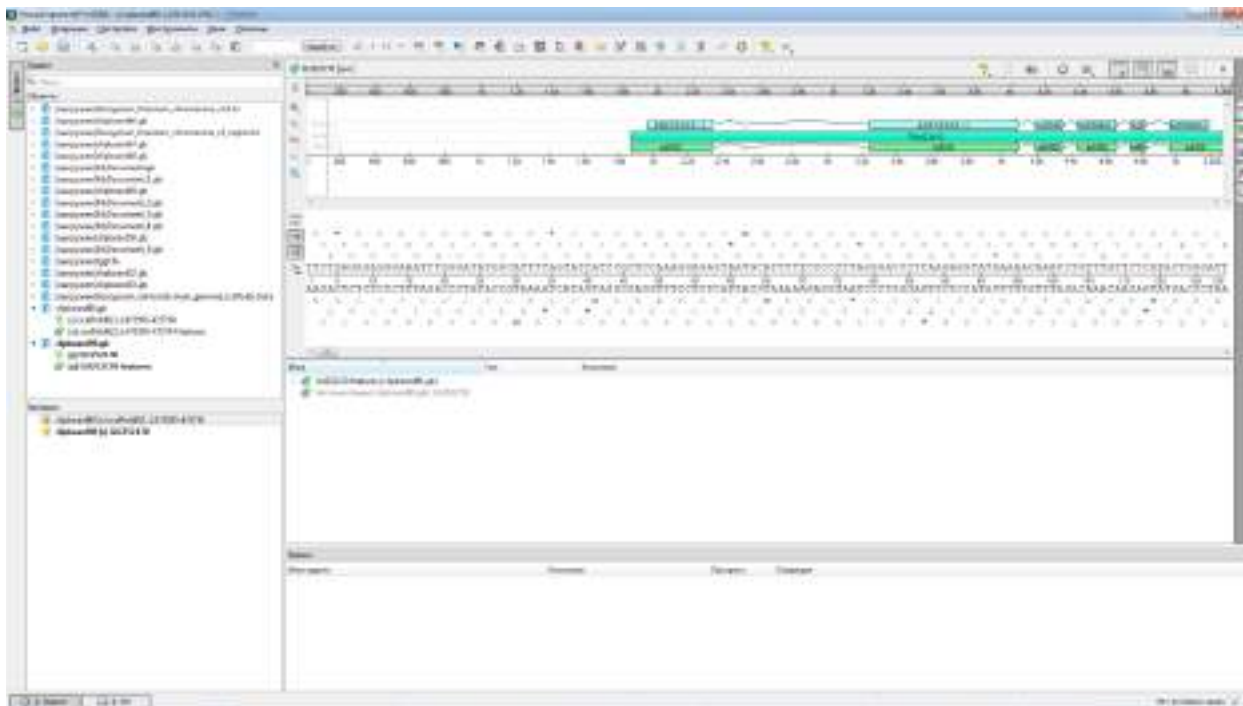
**3-вазифа.** NCBI маълумотлар базасига юкланган ДНК кетма-кетлигини таҳлил қилиш учун BLAST тугмасини босинг.



**4-вазифа.** Қидирув натижасида топилган кетма-кетликларни бирма-бир таҳлил қилинг.



**5-вазифа.** Тегишли (мос келувчи) ген/оксил ёки локус кетма-кетликларини Ugene 1.21.0 дастурида ҳам таҳлил қилиб кўринг.



### **Назорат саволлари:**

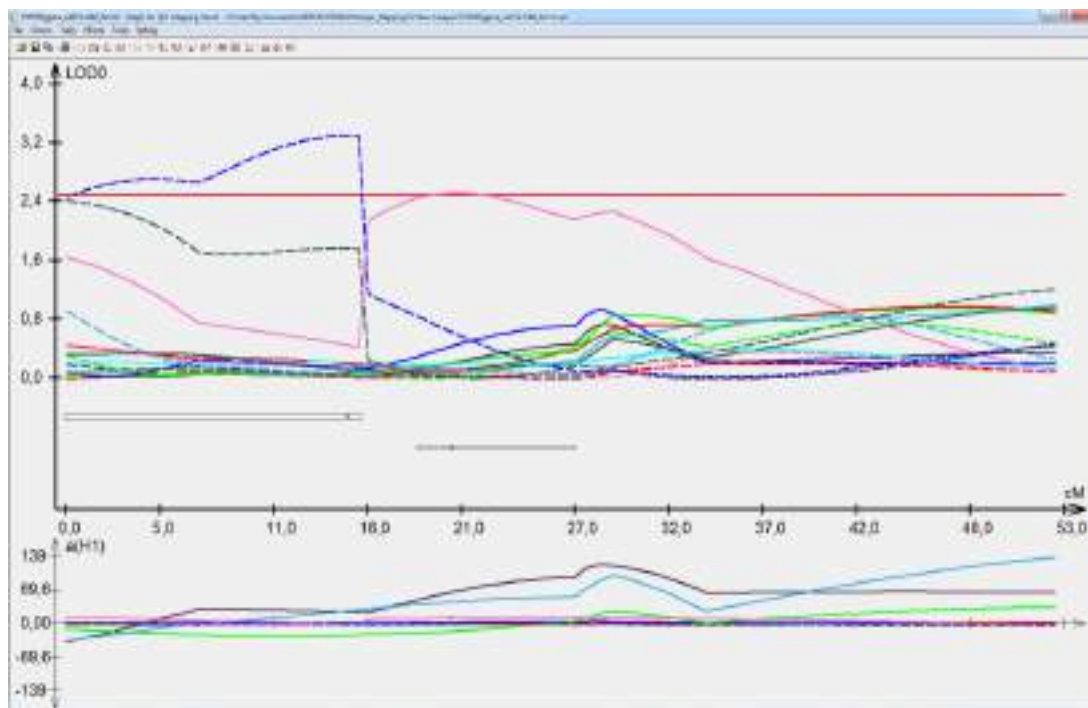
1. Маълумотлар базаси ҳақида нималарни биласиз?
2. Нуклеотид кетма-кетликлар маълумотлар базасига мисоллар келтиринг?
3. Оксил кетма-кетликлар маълумотлар базасига мисоллар келтиринг?
4. Генлар/оксилларни анотация қилишда қандай биоинформатик дастурлардан фойдаланилади?
5. BLAST таҳлили ҳақида тушунчангиз борми?

### **Фойдаланилган адабиётлар:**

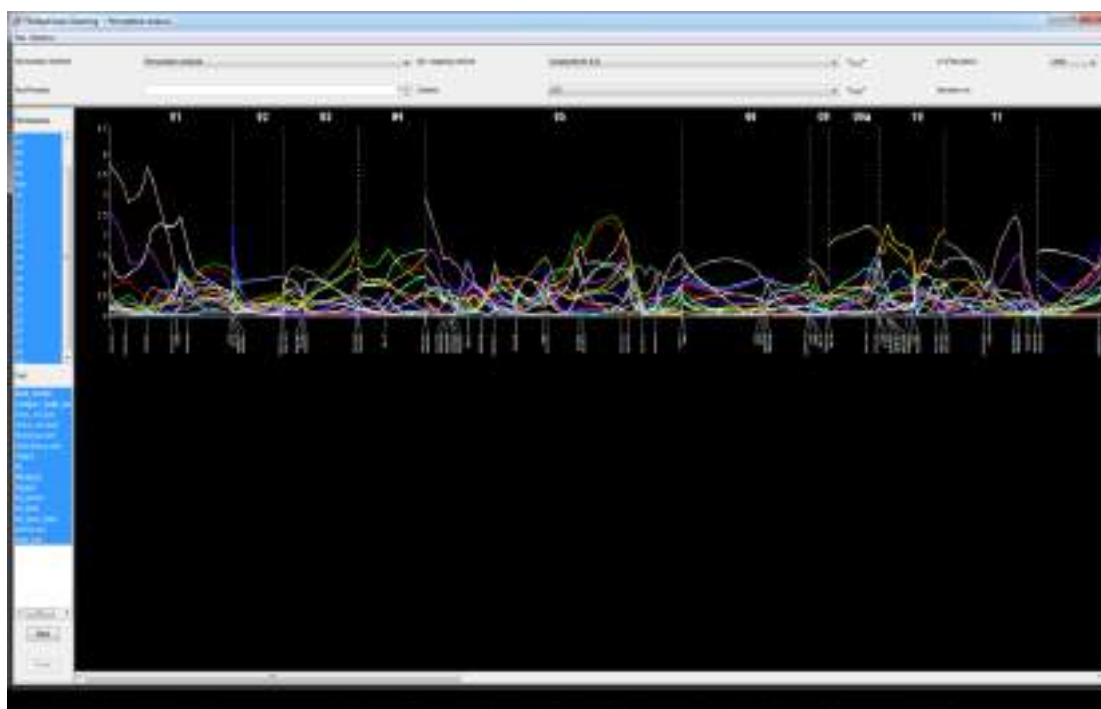
1. Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool." *J. Mol. Biol.* 215:403-410. PubMed
2. Gish, W. & States, D.J. (1993) "Identification of protein coding regions by database similarity search." *Nature Genet.* 3:266-272. PubMed
3. Madden, T.L., Tatusov, R.L. & Zhang, J. (1996) "Applications of network BLAST server" *Meth. Enzymol.* 266:131-141. PubMed
4. Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. & Lipman, D.J. (1997) "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs." *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402. PubMed
5. Zhang Z., Schwartz S., Wagner L., & Miller W. (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences" *J Comput Biol* 2000; 7(1-2):203-14. PubMed
6. Zhang, J. & Madden, T.L. (1997) "PowerBLAST: A new network BLAST application for interactive or automated sequence analysis and annotation." *Genome Res.* 7:649-656. PubMed
7. Morgulis A., Coulouris G., Raytselis Y., Madden T.L., Agarwala R., & Schäffer A.A. (2008) "Database indexing for production MegaBLAST searches." *Bioinformatics* 15:1757-1764. PubMed
8. Camacho C., Coulouris G., Avagyan V., Ma N., Papadopoulos J., Bealer K., & Madden T.L. (2008) "BLAST+: architecture and applications." *BMC Bioinformatics* 10:421. PubMed
9. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., the UGENE team. // Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. Vol. 28 no. 8 2012, pages 1166–1167 doi:10.1093/bioinformatics/bts091

## V. КЕЙСЛАР БАНКИ

**1-кейс.** Бирон бир белгига генетик бириккан миқдорий белгилар локуслари (QTL) ларни аниқланг.



**2-кейс.** Бирон бир белгига генетик бириккан миқдорий белгилар локуслари (QTL) ларни аниқланг.





**3-кейс.** Табiiй фанлар, жумладан биология фани биоинформатика билан чамбарчас боғлиқ. Биоинформатика биология соҳасининг қайси йўналишларида кўпроқ қўлланилади?

*Фикрингизни асослаб беринг.*

**4-кейс.** Генларни катталаштириш учун энг аввало бирикканлик карталарини тузиш талаб этилади. Қайси дастурий таъминот асосида бирикканлик карталарини тузиш мумкин?

*Дастурни ишлаша принципини тушунтиринг.*

**5-кейс.** Маркерларни идентификация қилиш учун миқдорий белгилар локуслари аниқлаб олинади. Миқдорий белгилар локусларини карталаштиришда фойдаланиладиган дастурий таъминотни айтинг ҳамда унинг ишлаш принципини тушунтириб беринг.

## VI. МУСТАҚИЛ ТАЪЛИМ МАВЗУЛАРИ

### Мустақил ишни ташкил этишнинг шакли ва мазмуни

Тингловчи мустақил ишни муайян модулни хусусиятларини ҳисобга олган ҳолда қуйидаги шакллардан фойдаланиб тайёрлаши тавсия этилади:

- ўқув, илмий адабиётлардан ва меъерий хужжатлардан фойдаланиш асосида модул мавзуларини ўрганиш;
- тарқатма материаллар бўйича маърузалар қисмини ўзлаштириш;
- махсус адабиётлар бўйича модул бўлимлари ёки мавзулари устида ишлаш;
- тингловчининг касбий фаолияти билан боғлиқ бўлган модул бўлимлари ва мавзуларни чуқур ўрганиш

### Мустақил таълим мавзулари:

- 1) 1 ва 16 капилляри ABI Prizm 3100, ABI Prizm 3130 секвенаторлар ишлаш принциплари
- 2) Интернет тармоғида нуклеотид кетма-кетликлар маълумотлар базасида ишлаш ва гомолог генларни топиш.
- 3) янги авлод секвенатори Roche/454 Life Sciences нинг ишлаш принципи
- 4) UGene генларни аннотациялаш биоинформатик дастури билан ишлаш ва In silico PCR ўтказиш.
- 5) “Одам геноми” лойиҳаси
- 6) Оксил кетма-кетликларини қиёслаш.
- 7) NCBI, ENTREZ ва BLAST – мақсади ва вазифалари
- 8) Филогенетик шажаралар яратиш бўйича дастурий таъминотлар
- 9) Тиббиёт геномикаси, ген диагностикаси ва генотерапия. Фармакоинформатика.
- 10) Биополимерлар фазовий структураси.

## VII. ГЛОССАРИЙ

Термин	Ўзбек тилидаги шархи	Инглиз тилидаги шархи
<b>Аллель</b>	Ген. Генлар ҳолатининг бири. Масалан: А ёки а.	One of several alternative forms of a gene that occur at a given locus on a chromosome. Most often there are two paired copies of a gene on homologous chromosomes. For each of your gene you get one copy (allele) from each parent. They may be nearly identical in DNA sequence or have slight variations (i.e. mutations).
<b>Аминокислота</b>	Органик кислота молекуласида бир ёки бир нечта водород атоми аминогруппа NH <sub>2</sub> га алмашишидан ҳосил бўлади. Бунда NH <sub>2</sub> гурпуа кўпинча карбоксил гурпуага кўшни углерод (альфа (α) углерод) атомининг водороди ўрнига киради ва α аминокислота ҳосил бўлади.	Any of a class of 20 molecules that are combined to form proteins in living things. The sequence of amino acids in a protein and hence protein function are determined by the genetic code
<b>Антикодон</b>	t РНК ўрта қисмидаги 3 та нуклеотид (триплет)дан иборат, и РНК нинг кодониға мос келади. Кодон ва антикодон комплементар бўлса, t РНК олиб келган аминокислота рибосоманинг катта бирлигида қолдирилади ва синтезланаётган занжириға уланади.	An anticodon is a unit made up of three nucleotides that correspond to the three bases of the codon on the mRNA. Each tRNA contains a specific anticodon triplet sequence that can base-pair to one or more codons for an amino acid. Some anticodons can pair with more than one codon due to a phenomenon known as wobble base pairing.
<b>Биополимерлар</b>	Юқори молекулали табиий брикмалар (оқсиллар, нуклеин кислоталар, полисахаридлар) бўлиб, молекуласи кўп маротаба такрорланадиган кичик молекулали мономер ёки улар қисмларидан иборат.	Polymers produced by living organisms; in other words, they are polymeric biomolecules.
<b>Генеалогия</b>	«Genealogia» - сўзидан олинган бўлиб, шажара деган маънони билдиради. Одамнинг бирор белги-хоссасининг авлодларда ирсийланишини	Genealogy is a family history, is the study of families and the tracing of their lineages and history.

	тадқиқ этади.	
<b>Генетик инженерия</b>	Ген муҳандислиги рекомбинант ДНКлар технологияси. Генетик ва биокимёвий усуллар ёрдамида организм ёки ҳужайра биологик ахборотни ўзгартириш билан табиатда учрамайдиган, янги хусусиятга эга бўлган генлар тўпламини ва шу асосда янги штамм, нав ва зотларни яратиш.	Modification of the natural DNA sequence of a gene or genes. Genetic engineering is the basis of the modern biotechnological revolution, to which we owe such inventions as insulin-producing bacteria.
<b>Генетик код</b>	Нуклеин кислоталар молекуласида ирсий ахборотнинг нуклеотидлар кетма-кетлигида берилишидан иборат. Генетик код 3та харф нуклеотиддан иборат бўлади. Бу триплет дейилади.	Three bases (e.g. 5'CGC3') in a DNA or RNA sequence specify a codon, which codes for an amino acid (e.g. arginine) in a protein. Genes are frequently tens of thousands of base-pairs long. Usually the codons of an exon are in phase within an uninterrupted open reading frame giving rise to long chains of amino acids after ribosomal translation.
<b>Генлар дрейфи (генетик автоном жараёнлар)</b>	Тасодиқий омиллар таъсирида кичик популяцияларда генлар учраш тезлигининг ўзгариши. Одатда популяцияларда ирсий ўзгарувчанлик камайишга олиб келади. Қариндош-уруғлар орасидаги никоҳлар ортиб кетганида бу ҳолат кучаяди. Бунда популяцияда селектив аҳамияти бўлмаган генлар сақланиб қолиши ва кўпайиши мумкин.	Practice of "stimulating biased inheritance of particular genes to alter entire populations. It has been proposed as a technique for changing wild populations of harmful organisms such as mosquitoes to be less dangerous.
<b>Геном</b>	Генлар йиғиндиси. Хромосомаларнинг гаплоид тўплами. Геномнинг генотипдан фарқи шундаки, у айрим зот ёки навни эмас, балки бир турни характерлаб беради.	A complete set (n) of chromosomes (hence, of genes) inherited as a unit from one parent plus one sex chromosome from the other parent in heterogametic individuals. The full genome sequences are available for hundreds of bacteria and viruses, human, and model organisms like mouse, frog, worm and fruit flies.
<b>Генотип</b>	Организмнинг ирсий асоси. Диплоид тўпландаги барча генлар йиғиндиси.	The part (DNA sequence) of the genetic makeup of a cell, and therefore of an organism or

		individual, which determines a specific characteristic (phenotype) of that cell/organism/individual. Genotype is one of three factors that determine phenotype, the other two being inherited epigenetic factors, and non-inherited environmental factors.
<b>Гомологик хромосома</b>	Катталиги, шакли, генлари бир хил бўлган жуфт хромосомалар.	A couple of homologous chromosomes, or homologs, are a set of one maternal and one paternal chromosomes that pair up with each other inside a cell during meiosis.
<b>Днк</b>	Дезоксирибонуклеин кислота. Фақат одамдагина эмас, балки барча бошқа эукариотларда, шунингдек, прокариотларда ирсий ахборот сақловчи саналади.	The molecule that encodes genetic information. DNA is a double-stranded molecule held together by weak bonds between base pairs of nucleotides. The four nucleotides in dna contain the bases stranded molecule held together by weak bonds between base pairs of nucleotides. The four nucleotides in DNA contain the bases: adenine (A), guanine (G), cytosine (C), and thymine (T). In nature, base pairs form only between A and T and between G and C; thus the base sequence of each single strand can be deduced from that of its partner.
<b>И рнк</b>	информацион РНК. У ўзида ДНК дан кўчириб олинган ахборотни сақлайди ва оқсил синтези жараёнида матрица (қолип, андаза) вазифасини бажаради. Шунинг учун у и-РНК, матрица-РНК си деб ҳам юритилади.	RNA that serves as a template for protein synthesis.
<b>Инtron</b>	и РНК ниг «ахборотсиз» қисмлар йиғиндиси.	The DNA base sequences interrupting the protein-coding sequences of a gene; these sequences are transcribed into RNA but are cut out of the message before it is translated into protein. Compare exons.
<b>Ирсият</b>	Ирсийланиш жараёни орқали	The passing of familial

	организмларнинг авлодлар алмашилиши давомида ирсий маълумотларни авлоддан-авлодга ўтказиш жараёни.	elements from one generation to the next.
<b>Модификатор генлар</b>	Организмдаги белги ва хусусиятларнинг ривожланишида иштирок этмай, балки бошқа асосий генларнинг таъсирини ўзгартирувчи, яъни бевосита эмас, билвосита таъсир этувчи генлардир.	Genes that have small quantitative effects on the level of expression of another gene
<b>Нуклеин кислота</b>	Юқори молекуляр биополимер бўлиб, жуда кўп мономерлардан тузилган органик бирикма. Унинг мономерлари нуклеотидлар бўлиб, нуклеин кислота полинуклеотид ҳисобланади.	A large molecule composed of nucleotide subunits.
<b>Пиримидин</b>	ДНК нинг биринчи занжиридаги пурин азотли асосига комплементар ҳолатда 2-чи занжирида жойлашган азотли асос.	Nitrogen-containing organic bases made from a single ring structure. Includes cytosine and thymine (DNA) and uracil (RNA) that base-pair with purines to form the rungs in the DNA double helical ladder.
<b>Полиморфизм</b>	Кўп шакллилик бир тур доирасида бир-биридан кескин фарқ қилувчи индивидларнинг мавжудлиги.	A Difference in DNA sequence among individuals. Genetic variations occurring in more than 1% of a population would be considered useful polymorphisms for genetic linkage analysis. Compare mutation.
<b>Промотор</b>	Оперондан олдинда жойлашган триплет гуруҳларидан бири бўлиб, РНК ва ДНК синтезини катализловчи РНК полимераза билан бирикиш хусусиятига эга.	A site on DNA to which RNA polymerase will bind and initiate transcription.
<b>Пурин</b>	Кўш занжирли ДНК молекуласининг 1-занжирида аденин ва тиминдан иборат асос. Комплементарлик қоидага биноан 1-занжирдаги пурин асоси қаршисида 2-занжирда пиримидин асоси туради.	A nitrogen-containing, single-ring, basic compound that occurs in nucleic acids. The purines in DNA and RNA are adenine and guanine.
<b>Р рнк</b>	РНКлар рибосоманинг ҳар иккала суббирликлари таркибида бўлади.	A class of RNA found in the ribosomes of cells.

<p><b>Т рнк</b></p>	<p>Транспорт рибонуклеин кислота. РНК полимераза ферменти иштирокида ДНК матрицасида синтезланади. т РНК қуйи молекуляр массага эга бўлиб, 75-85 нуклеотиддан ташкил топган. У беда барги типигадаги кўринишда бўлади. Рибосомаларга аминокислоталарни ташиш вазифасини ўтайди.</p>	<p>A class of RNA having structures with triplet nucleotide sequences that are complementary to the triplet nucleotide coding sequences of mRNA. The role of tRNAs in protein synthesis is to bond with amino acids and transfer them to the ribosomes, where proteins are assembled according to the genetic code carried by mRNA.</p>
<p><b>Урацил</b></p>	<p>Пиримидин асослари; РНК ва эркин нуклеотидлар таркибига киради.</p>	<p>A common pyrimidine found in RNA, it base pairs with adenine and is replaced by thymine in DNA. Methylation of uracil produces thymine. It turns into thymine to protect the DNA and to improve the efficiency of DNA replication. Uracil can base pair with any of the bases depending on how the molecule arranges itself on the helix, but readily pairs with adenine because the methyl group is repelled into a fixed position.</p>
<p><b>Цитозин</b></p>	<p>Нуклеин кислоталарнинг таркибий қисми бўлган нуклеотидларни ҳосил қилувчи 4 та азотли асоснинг биттаси. Комплементарлик принципига асосан цитозинли азотли асос қаршисида гуанин азотли асос туради.</p>	<p>Pyrimidine base found in RNA and DNA. Cytosine (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O) forms base-pairs with guanine only. It may become methylated where it occurs consecutively to guanine in the DNA sequence (see 5-methylcytosine).</p>
<p><b>Экзон</b></p>	<p>Ген (ДНК)нинг генетик ахборотга эга бўлган аминокислоталар кетма-кетлигини ифодаловчи (кодловчи) қисми. Экзонлар интрон билан галлашиб туради.</p>	<p>The protein-coding DNA sequences of a gene. Compare introns.</p>
<p><b>Экспрессия</b></p>	<p>Намоён бўлиш - муайян ген томонидан аниқланувчи белгининг фенотипда организмнинг яшаш шароитига қараб намоён бўлиш даражаси.</p>	<p>Production of observable/detectable characteristics of an organism, usually due to the synthesis of protein.</p>

## VIII. АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ

1. Леск А.М. Введение в биоинформатику /Introduction to Bioinformatics пер. с англ. под ред. А. А. Миронова, В. К. Швьадаса. - М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2009. - 318, [2] с. : цв. ил, рис.

2. Сетубал Ж., Мейданис Ж. Введение в вычислительную молекулярную биологию / Introduction to Computational Molecular Biology / пер. с англ. А. А. Чумичкина; под ред. А. А. Миронова. - М. ; Ижевск : Регуляр. и хаот. динамика: НИЦ "Регулярная и хаотическая динамика", Ин-т компьютер. исслед., 2007. - 420 с.

3. Model M.L. Bioinformatics Programming Using Python: Practical Programming for Biological Data New York: O'Reilly Media, 2009. English

4. Capecchi M.R. // Nat. Rev. Genet. 2005. V. 6. № 6. P. 507–512.

5. Bibikova M., Golic M., Golic K.G., Carroll D. // Genetics. 2002. V. 161. № 3. P. 1169–1175.

6. Miles, C; Wayne, M (2008). "Quantitative trait locus (QTL) analysis". Nature Education (1.1).

7. Ricki Lewis (2003), Multifactorial Traits, McGraw-Hill Higher Education.

8. Proud, Virginia & Roberts, Helen (31 December 2005). "Medical Genetics: Multifactorial Inheritance". Children's Hospital of the King's Daughters. Retrieved 6 January 2007.

9. "Multifactorial Inheritance". Pregnancy and Newborn Health Education Centre. The March of Dimes. Archived from the original on 2 November 2006. Retrieved November 12, 2014.

10. Emery's Elements of Medical Genetics

11. Tissot, Robert. "Human Genetics for 1st Year Students: Multifactorial Inheritance". Retrieved 6 January 2007.

12. Zhang Z., Schwartz S., Wagner L., & Miller W. (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences" J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14. PubMed

13. Morgulis A., Coulouris G., Raytselis Y., Madden T.L., Agarwala R., & Schäffer A.A. (2008) "Database indexing for production MegaBLAST searches." Bioinformatics 15:1757-1764. PubMed

14. Camacho C., Coulouris G., Avagyan V., Ma N., Papadopoulos J., Bealer K., & Madden T.L. (2008) "BLAST+: architecture and applications." BMC Bioinformatics 10:421. PubMed

15. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., the UGENE team. // Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. Vol. 28 no. 8 2012, pages 1166–1167 doi:10.1093/bioinformatics/bts091



## Интернет ресурслари

1. <http://www.jcbi.ru/> – Объединенный Центр вычислительной биологии и биоинформатики, русскоязычный информационный сайт с веб-адресами и краткой характеристикой молекулярно-биологических баз данных
2. <http://beta.uniprot.org/> – SWISS-PROT|UniProt the protein sequence data bank, база данных UniProt
3. <http://www.ebi.ac.uk/uniprot/> – база данных UniProt на сервере Европейского института биоинформатики (European Bioinformatics Institute, EBI)
4. <http://www.expasy.org/sprot/> – базы данных Swiss-Prot, TrEmbl, UniProt на сервере ExPASy (Expert Protein Analysis System) Швейцарского Института Биоинформатики SIB
5. <http://www.rcsb.org/> – Protein Data Bank, база данных PDB.
6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (<http://www.pubmed.com/>) – сервер Национального центра биотехнологической информации США (NCBI): базы данных GenBank, NCBI Protein Database, UniGene, HomoloGene и др.
7. <http://cmm.info.nih.gov/modeling/> – сервер Центра моделирования молекул Национального Института Здоровья NIH, США
8. <http://www.genebio.com/> – сайт компании GeneBio (Geneva Bioinformatics S.A.), распространяющей информацию из протеомных баз данных: SWISS-PROT, PROSITE, SWISS-2DPAGE и соответствующие программные приложения
9. <http://www.genebee.msu.su/> – регулярно обновляемая копия (зеркало) базы компании GeneBio в России, на сайте Института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского
10. <http://molbiol.ru/> – Классическая и молекулярная биология
11. <http://molbiol.edu.ru/> – Практическая молекулярная биология
12. <http://proteome.ru/> – русскоязычный сайт проекта “Протеом человека”