

**CRISPR/Cas9 METODIKASINI BIOTEXNOLOGIYA FANLARIGA  
INTEGRATSIYALASHTIRISH VA UNING AHAMIYATI**

Baysariyeva Ch.U .,

Tojiyev Sh. S.,

Ro‘zimurodov B. J.

Samarqand davlat veterinariya meditsinasi  
chorvachilik va biotexnologiyalar universiteti

**Annotatsiya**

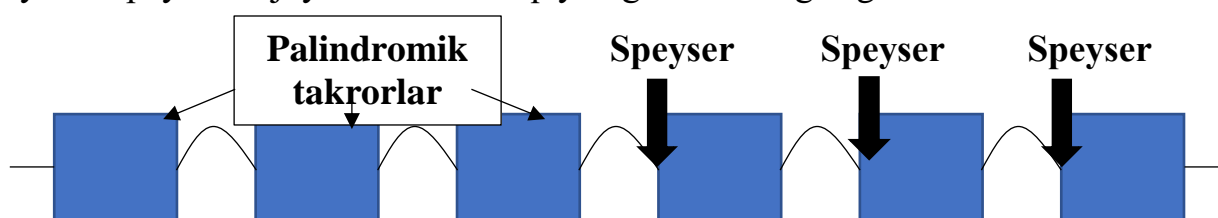
Respublikamizda gen muhandisligi sohasining rivojlanishini hisobga olgan holda, CRISPR/Cas9 gen tahrirlash metodikasini Biotexnologiya ta’lim yo’nalishlari mavjud bo’lgan Oliy ta’lim muassasalariga joriy etish muhimdir. Metodikani integratsiyalashtirish orqali rivojlangan davlatlar bilan baxslasha oladigan va Biotexnologiya sohasining tarmoqlarini yuksaltiruvchi kadrlar tayyorlash asosiy maqsad sanaladi

**Kalit so‘zlar.** CRISPR/Cas9, Gen muhandisligi, oqsil, bakteriya, arxey, bakteriofag, plazmidlar, gen, DNK, Speyserlar, Protospeyserlar, takrorlanishlar, gid-RNK, bakteriya immuniteti, ferment-qaychilar, ikki zanjirli uzulish, genlar konstruksiyasi, mutatsiya, gen terapiya, vektorlar.

Biotexnologiya fani tarmog‘i sifatida Gen muhandisligi turli xil kasalliklarni davolash, shu bilan birga yangi o‘simlik navlari, hayvon zotlari va mikroorganizm shtammlarini yaratishda dunyo globallashuvining eng dolzarb yo‘nalishga aylanib ulgurdi. CRISPR/Cas9 metodikasini esa Gen muhandisligining yuragiga aylanishiga sabab qilib quyidagilarni ko‘rsatishimiz mumkin:

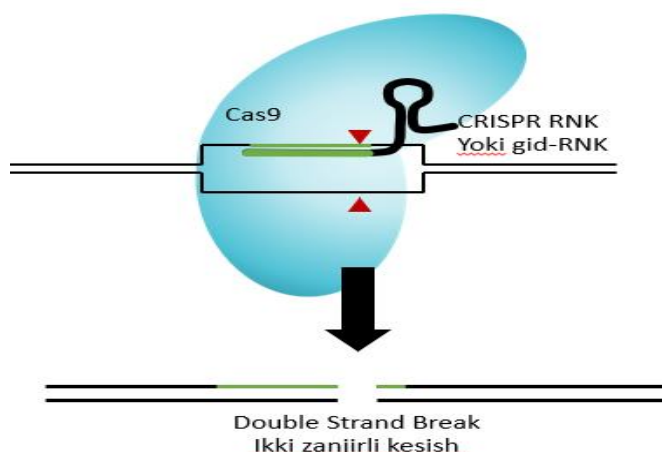
- CRISPR/Cas9 genlarni tahrirlashning hozirgi kundagi eng qulay va arzon shaklidir;
- Metodika ancha sodda hamda amaliy jihatdan oson hisoblanadi;
- Genlarni tahrirlash o‘ta aniqlikda amalga oshiriladi va ko‘p vaqt talab etmaydi;
- Turli xil kasalliklarni nafaqat davolash balki gen lokuslaridagi nuqsonlari aniq topish hamda belgilash imkoniyati mavjud;
- Kichik quvvatga ega laboratoriyalarda ham ishni amalga oshirish mumkin; Albatta, yuqoridagi qulayliklarni hisobga olib, dunyoning barcha biotexnologlari nega bu metodikani tanlashgani ayon bo‘ladi. Xo‘sh, CRISPR/Cas9 nima? U qanday ishlaydi?

1987-yilda Yaponiyaning Osaka Universiteti olimlari bakteriya va ayrim arxeylarda bakteriofaglar qarshi o'ziga xos immun tizimining mavjudligini aniqladilar va unga CRISPR- (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) ya'ni Klasterlangan muntazam intervalli qisqa palindromik takrorlar deb nom berishdi. Million yillar davomida bakteriyalar va bakteriya viruslari ya'ni bakteriofaglar o'rtasida kurash, bakteriyalarda o'zidan bir necha barobar ko'p hamda "ayyor" viruslardan himoyalani uchun immun mexanizmini paydo bo'lishiga asos bo'ldi. Qachonki, virus bakteriya ichiga o'z genomini kiritar ekan, ba'zi tirik qolgan bakteriyalar maxsus Cas oqsillaridan foydalanib faglarining genomini kesa oldi hamda bu genlarning **Protospeyser** deb ataladigan ayrim bo'laklarini **Speyser** holda o'z DNK molekulasining ma'lum joylarida saqladi. Ushbu lokuslar qisqa palindromik takrorlanishlardan iborat gen molekulalariga ega bo'lib, har takrorlanishlar orasida fagdan qirqib olingan gen ya'ni Speyserlar joylashadi. Ular quyidagi ko'rinishga ega:



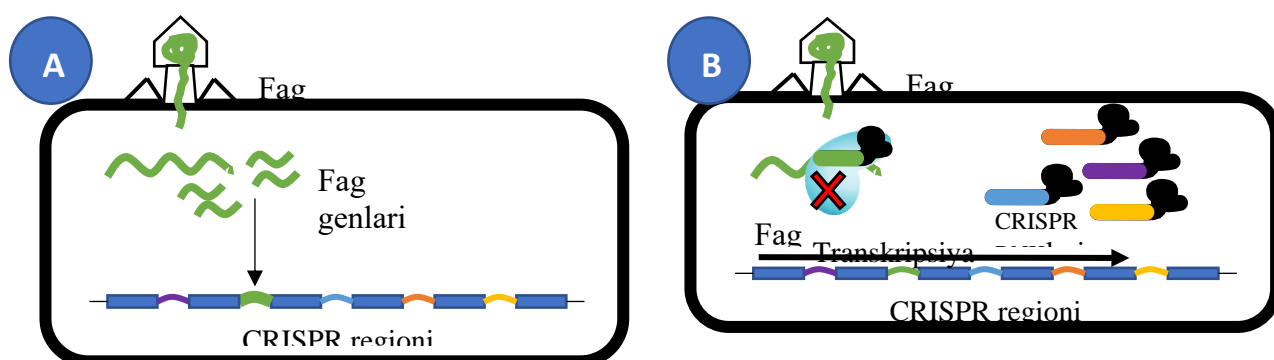
**1-rasm.** Bakteriya genomining CRISPR qismi

Bakteriya har bitta bakteriofagdan omon qolganida ularning genlarini zararsizlantirib, o'z DNK molekulasiga alohida shaklda saqlab qo'yadi. Saqlash jarayonini ta'minlash uchun ham turli oqsillar qatnashadi. Transkripsiya orqali ushbu Speyserlar bilan birikkan, qisqa takrorlardan iborat RNKlar sintezlanadi. Bu RNKlar DNK molekulasini qaychi singari kesuvchi turli xil Cas oqsillari bilan kompleks hosil qilib, hujayra ichida o'ziga mos bo'lgan genlarni qidirib yuradi va xuddi shu genga ega boshqa virus genomi bakteriya hujayrasiga kirganida Cas oqsillari o'z tarkibidagi RNKga hujayradagi begona DNKning mosligini solishtiradi. Agarda, genlar bir-biriga mos kelsa, Cas oqsillari fag genomini ikki zanjirli uzulish orqali kesadi. Kesilgan molekulalar esa boshqa nukleazalar bilan parchalab tashlanadi va virus genomi zararsizlantiriladi. Bakteriofaglar o'z genomida turli xil mutatsiyalar orqali o'zgarish sodir qilish bilan ushbu "jang"ning davomiyligini ta'minlab beradi.



**2-rasm.** Cas9 oqsilining tuzilishi va nishon DNK zanjirining kesilish shakli Yuqoridagi hodisa yana va yana takrorlanar ekan, evolyutsiya jarayonida Cas oqsillarining yangi funksiyalarga ega shakllari paydo bo‘lib bordi.

**Cas9** (CRISPR assotsiatsiyalangan protein 9) – bu nukleaza (crispr) crRNKlar bilan kompleks hosil qiluvchi Cas oqsillarining turi bo‘lib, crRNKlar orqali harakatlanadi. Qachonki crRNK nishon DNK molekulari bilan mos kelganda uni qaychi singari kesib, ikkiga zanjirli uzulish hosil qiladi. Cas oqsillari turli xil bo‘lib, hozirgi kunda yangi ko‘rinishga va funksiyaga ega shakllari topilmoqda. Cas9 oqsili esa gen muhandisligida qo‘llanilishi juda qulay nukleazadir. CRISPR-RNKlar keyinchalik **gid(guide)RNK** deya yuritila boshlandi. Sababi, u gid kabi nukleazalarni nishon DNKlarga yetkazilishini ta‘minlashda yo‘naltiruvchi vazifasini bajaradi.



**3-rasm.** (Minipcr-bio 2020-yil, Amplyus LLC dan olindi). **A.** Fagning bakteriya genomida saqlanishi. **B.** 2-marta zararlanishda Cas-RNK komplekslari orqali Fag genomining zararsizlantirishi.

Bakteriyalar immuniteti aniqlangan bo'lsa ham, ularning turli xil yo'llar bilan viruslardan himoyalaniishi ko'pchilik olimlarga qiziq emas edi. Ammo, mexanizm bakteriya immuniteti kabi eukariot hujayralarda ham ishlashi aniqlangach, butun dunyo olimlari yangilikni o'rganishga kirishib ketishdi. Gen muhandisligining yangi Erasi 2012-yilda Jennifer Daudna va uning jamoasi CRISPR/Cas9 loyihasini ommaga taqdim etgandan so'ng boshlandi. Genlarni konstruksiyalash usuli orqali ular gid-RNKni turli xil genetik kasalliklarning genlar ketma-ketligiga mosladilar va ularni Cas oqsillariga birlashtirdilar. Olingan Vektor konstruksiyalarni hujayraga yuborish orqali murakkab mexanizmni ishga tushurish va bu bilan davosi yo'q ko'ringan kasalliklarni yengish mumkinligi isbotlandi.

Cas9 oqsili gid-RNKsidagi genlar ketma-ketligi bo'yicha DNKga bog'langan nishon genlarni ikki zanjirli uzilish bilan kesadi. Kesilgan DNKni hujayradagi maxsus fermentlar tezda topadi va ularni ulashi zarur. Aks holda genlar zararlanib, moddalar almashinuvi buziladi, hattoki xromosomalarning tuzilishiga katta zarar yetishi mumkin. Uzilgan DNKlar hujayraning turli sikllarida ikki xil usulda tuzatiladi: Nogomologik Oxirlarning Birlashuvi (NOB) yoki Yo'naltirilgan Gomologik Tuzatish (YGT). NOB orqali tuzatish gen muhandisligida letal deb hisoblangan yoki nishon genlarni butunlay asosiy zanjirdan olib tashlash uchun qo'llaniladi. Chunki, NOB mexanizmi ikki zanjirli uzulishga uchragan DNKdagi genni butunlay parchalab, zararlanmagan qo'shni genlarni o'zaro ulaydi, u ko'proq gen-nokaut uchun qo'llanilmoqda. YGT mexanizmi esa gomologik xromosomalardagi sog'lom genlar shablonidan foydalanib, uzulgan genni qaytadan tiklab, ulaydi. YGT mexanizmidan foydalanib qo'shimcha genlar kiritish mumkin va bu genlarni konstruksiyalash jarayonida amalga oshirilishi lozim. Konstruksiyalangan genlar ikki zanjirli uzulish hosil bo'lgan DNKga fermentlar yordamida avtomatik biriktirilishi uchun nishon genning gomologik xromosomadagi shablonlariga qisman mos kelishi kerak. Ikkala tiklash mexanizmlari bir-biridan hujayra sikllaridagi faolligi bilan farq qiladi. Gen muhandislari qaysi uzulishdan foydalanmoqchi bo'lsalar, albatta hujayra sikliga e'tibor berishlari lozim bo'ladi.

2020-yilda Jennifer Daudna va Emmanuel Charpantyer olamshumul loyiha uchun Nobel mukofotiga sazovor bo'lishdi. Hozirgi kunga kelib, tadqiqotchilar Altsgeymer, Xantington, OITS kabi kasalliklarni davolash uchun CRISPR/Cas9 terapiyasini ishlab chiqmoqdalar va bemorlarda dastlabki sinovlar muvofaqiyatli amalga oshirilmoqda. Olimlar irsiy kasalliklar, virusli infeksiyalar, saraton hamda boshqa jiddiy kasalliklarni davolashga va'da



bermoqda va buning imkoni bor. Ammo, klinik natijalar va amaliyotga yangi texnikani to'g'ridan-to'g'ri qo'llashda muammolarga duch kelinmoqda. Metodikada ham muammolar mavjud. Sababi, Cas oqsillari DNK molekulasini ikki xil turda uzadi va bu kichik mutatsiyalarga olib kelishi mumkin. Kutilmagan mutatsiyalarni oldini olish esa genlar konstruksiyasining mukammalligi, tanlangan nukleazaning spetsifikligi, kiritilayotgan yangi genlarning ta'siri, organizmlarning individualligi kabi omillarning to'liq o'rganilishi orqali bartaraf etish mumkin.

CRISPR/Cas9 loyihasi dunyo miqyosida keng ommalashgan va eng ko'p foydalanilayotgan gen muhandisligi metodikasidir. Dunyo olimlari fikriga ko'ra metodika- aniqligi, unchalik yuqori kuchga ega bo'lmagan laboratoriyalarda ham qo'llash mumkinligi, arzon va qulayligi bilan tibbiyot, sanoat, ilm-fan sohalarida muvofaqiyat qozonmoqda. Genlarni konstruksiyalashning CRISPR/Cas9 metodikasi doirasida mukammal bajarish, uning ishlash prinsipini aniq bilish va respublikamizda amaliyotga tadbiiq qilish uchun Oliy ta'lim muassasalarining mos yo'nalishlariga alohida ilmiy metod sifatida kiritish muhim o'rin tutadi. Yevropa ta'limiga asoslangan CRISPR/Cas9 loyihasi yo'nalishlarini mintaqamizda joriy qilish esa kelajakda biotexnologiya sohasida yangi marralarni egallashimizga turtki bo'ladi.

CRISPR/Cas9 metodikasini o'qitishning nazariy asoslari, kompyuter texnologiyalarida gen konstruksiyasi, laborator amaliyotlarda qo'llashning Yevropa usulida o'rgatish, CRISPR/Cas9 metodikasi yordamida gen ekspressiyalash hisoblanadi. Ushbu metodikani o'qitish orqali yetuk Biotexnolog kadrlar tayyorlash va jahon bozorida o'z o'rniga ega biotexnologik mahsulotlarni ishlab chiqarishda davlatimizning hissasini oshirishdir.

Xulosa qilib aytganda, CRISPR/Cas9 loyihasiga asoslangan maxsus metodikani ishlab chiqish orqali, kelajakda gen muhandisligi sohasida ham yetuk kadrlar va olimlarni yetishtirib chiqarish, chet el standartlari hamda talablariga asoslangan yangidan-yangi loyihalarni amaliyotga tadbiiq etish maqsad qilingan. Bu orqali mamlakatimizda tarqalgan gen kasalliklari, yuqumli kasalliklarni oldini olish, sanoat miqyosida noyob mahsulotlar ishlab chiqarish imkoniyati paydo bo'ladi. Ko'zlangan maqsadga yetish uchun zamonaviy talablarga mos metodlardan foydalanish zarur. CRISPR/Cas9 loyihasini o'qitish tizimiga metodika sifatida kiritish global miqyosda sinalgan va amaliy natija bermoqda.

**Foydalanilgan adabiyotlar**

1. Doudna J Mali P (23 Mart 2016). CRISPR-Cas: A Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. ISBN:978-1-62182-131-1
2. Yonglun Luo (26 Mart 2019) CRISPR Gene Editing: Methods and Protocols. Humana New York, NY. ISBN: 978-1-4939-9169-3
3. M. Tofazzal Islam, Pankaj K. Bhowmik, Kutubuddin A. Molla. (05 Iyun 2020) CRISPR-Cas Methods. Humana New York, NY. ISBN: 978-1-0716-0618-6
4. Kaur, R., Bharti, U., Tanda, A.S. (04 May 2022). Concept of CRISPR-CAS9 Technology and Its Application in Crop Improvement Systems. In: Tanda, A.S. (eds) Molecular Advances in Insect Resistance of Field Crops. Springer. ISBN: 978-3-030-92152-1