

ХЎЖАМШУКУРОВ Н.А.,
НУРМУХАМЕДОВА В.З.

БИОТЕХНОЛОГИЯ АСОСЛАРИ

ЎҚУВ-УСЛУБИЙ ҚЎЛЛАНМА





ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУ
ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ
ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ



“ДИКЛАЙМАН”

Ўқув ишлари бўйича
Профессор Муллоев Ш.А.

2-сентябрь 2013 йи.

“БИОТЕХНОЛОГИЯ АСОСЛАРИ”

фанидан лаборатория машғулотларини
бажариш учун

ЎҚУВ-УСЛУБИЙ ҚЎЛЛАНМА

TKTI AXBOROT RESURS MARKAZI

№ 000 812

KUTUBXONA
ToshKTI

№

814

Тошкент-2013

“Биотехнология асослари” фанидан лаборатория машғулоти бажариш учун ўқув-услубий қўлланма /Хўжамшукуров Н.А., Нурмухамедова В.З. -Тошкент.: ТКТИ, 2013. – 64 б.

Аннотация. Мазкур лаборатория машғулоти бажариш учун ўқув-услубий қўлланма 5321000-Озиқ-овқат маҳсулотлари технологияси (тармоқлар бўйича) ва 5320500-биотехнология (тармоқлар бўйича) йўналишлари бўйича бакалаврлар тайёрлаш ўқув режасига кўра “Биотехнология асослари” фани бўйича тузилган намунавий дастур асосида тайёрланган. Ушбу маърузалар матни 5321000-Озиқ-овқат маҳсулотлари технологияси (тармоқлар бўйича) ва 5320500-биотехнология (тармоқлар бўйича) тахсила олаётган бакалавриатура талаблари учун мўлжалланган.

Тақризчилар:

**Шокиров Зоир
Соатович**

б.ф.и., катта илмий ходим. ЎЗР ФА, Микробиология институтини, Микроорганизмлар молекуляр биологияси ва генетикаси” лабораторияси мудири

**Хасанов Хасан
Турсунович**

б.ф.и., доцент. ЎЗМУ, “Микробиология ва биотехнология” кафедраси доцентини

Ушбу ўқув-услубий қўлланма ТКТИ, “Озиқ-овқат маҳсулотлари технологияси” факультети, “Биотехнология” кафедраси йиғилишида муҳокама қилинган ва факультет Илмий-услубий Кенгашига муҳокама учун тавсия этилган. Баённома №1, 22-август, 2013 й.

Кафедра мудири, доцент


Н.А.ХЎЖАМШУКУРОВ

Ушбу маърузалар матни ТКТИ, “Озиқ-овқат маҳсулотлари технологияси” факультети, Илмий-услубий Кенгашида кўриб чиқилган ва Институт ўқув услубий кенгашига муҳокама учун тавсия этилган. Баённома №1, 26-август 2013 й.

Факультет Илмий - услубий Кенгаши раиси,
доцент


О.К.ЮНУСОВ

Ушбу ўқув-услубий қўлланма Тошкент кимё-технология институтини, Ўқув-услубий Кенгашида кўриб чиқилган ва чоп этишга тавсия этилган. Баённома №1, 30-август 2013 й.

ТКТИ, Ўқув-услубий кенгаши раиси,
доцент

Ш.А.МУТАЛОВ

БИОТЕХНОЛОГИЯ ЛАБОРАТОРИЯСИГА ҚЎЙИЛАДИГАН АСОСИЙ ТАЛАБЛАР ВА АСБОБ-УСКУНАЛАР БИЛАН ИШЛАШ ТАРТИБИНИ ЎРГАНИШ

Ишдан мақсад: талабалар махсус лаборатория ёки ўқув лабораториясида ишлаш тартиби ва асосий ускуналар билан танишадилар ҳамда фойдаланишни ўзлаштиришади.

Тушинтириш:

Биотехнология - ёки биологик жараёнлар технологияси - биологик агентлар ёки уларнинг мажмуаларидан (микроорганизмлар, ўсимликлар ва ҳайвон хужайралари, уларнинг компонентларидан) керакли махсулотлар ишлаб чиқариш мақсадида саноатда фойдаланиш деган маънони беради.

Адабиётларда «Биотехнология» терминига мутахассис олимлар томонидан турли хил таърифлар бериб келинмоқдаки, фаннинг hozirgi ривожланган даврида ҳам бирорта аниқ тўхтама келинмаган. Қуйида биотехнология соҳасининг етук олимлари томонидан ушбу терминга берилган таърифларга тўхталиб ўтамиз.

- а) *Анбаш, А.Хемфери, Н.Миллисларнинг (1975) фикрига кўра «Биотехнология» - янги биокимёвий ишлаб чиқаришлар махсулидир (витаминлар, антибиотиклар).*
- б) *«Биотехнология» моддаларни биосинтез усули орқали озуқа олиш фанининг бўлими бўлиб, у «биоинженерия» соҳаси билан боғлиқдир.*
- в) *А.Хастинг (1983) фикри бўйича «Биотехнология» - пиво, вино, пишлоқ, витамин-ларни санбат асосида олиш жараёнидир.*
- г) *1980 йил Европа федерацияси Кенгаши муҳокамасида «Биотехнология» - биологик тизимларни саноат асосидаги жараён деб қаралган.*
- д) *1983 йил Братиславада бўлиб ўтган кенгашида «Биотехнология» - моддаларни катта миқдордаги саноат асосида (биокатализаторлар орқали) олиш ва атроф муҳитни ҳимоя қиладиган фан деб таърифланган.*
- е) *А.А.Баев (1986), Ю.А.Овчинников (1982) «Биотехнология» биологик жараёнларни ишлаб чиқаришига жорий этиши тўғрисидаги фан деб таърифлашган.*

Биотехнология жараёнларидан микроорганизмлар, ўсимлик ва ҳайвон ҳужайралари, улардан ажратилган ферментлар, ҳужайра органеллалари, уларни ўраб турган мембраналар, соф ёки иммобиллашган ҳолатда оқсил, органик кислоталар, аминокислоталар, спиртлар, доривор моддалар, ферментлар, гормонлар ва бошқа моддалар ишлаб чиқаришда ёки баъзи бир органик моддаларни (масалан, биогаз) ишлаб чиқариш, соф ҳолда металл ажратиш, оқова сувларни ва қишлоқ хўжалик ёки саноат чиқиндиларини қайта ишлашда кенг фойдаланилади.

Ген мухандислиги - биотехнология фанининг ушбу бўлими имкониятларидан фойдаланиб, ҳозирги вақтда қайси продуцент оорганизмдан фойдаланган ҳолда фойдали маҳсулотлар олиш мумкинлигини аниқ кўрсатиб бериш мумкин. Агарда бундай продуцент бўлмаса, қай тариқада ва қандай шароитда юқори даражада исталган турдаги маҳсулотни олиш хусусиятни намоён қилувчи продуцентни яратиш мумкинлигини олдиндан айтиб бериш имкониятлари мавжуддир. Биотехнологик ишлаб чиқаришда бугунги кунда микроорганизмларни минглаб штаммларидан фойдаланилмоқда.

Ўзбекистон республикаси мустақилликка эришгандан сўнг қишлоқ хўжалиги, халқ хўжалиги ва озиқ-овқат ишлаб чиқариш соҳасига бўлган муносабат тубдан ўзгарди. Шу боисдан озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқариш соҳаси мутахассислари жаҳон халқ хўжалигида кенг кўламда қўлланилаётган биотехнология фанини замонавий кўринишларидан бири бўлган ген мухандислиги усулларини мукамал эгаллашилари ва амалиётга тадбиқ эта олишлари лозим.

Биотехнологияда ген мухандислиги соҳасини ўрганишдан мақсад, тирик организмлар ирсий белгилари ҳақидаги ахборот жойлашган ДНК молекуласининг тузилиши ва роли, ген молекуляр биологияси; генетик мухандисликнинг моддий асослари: трансформация, трансдукция, кўчиб юрувчи генетик элементлар-транспозонлар, плазмидлар, вируслар, бактериофаглар, рестриктазалар, рекомбинант ДНК олиш, генларни клонлаш, ҳужайра мухандислиги, ҳужайра ва

тўқималарни сунъий шароитда ўстириш технологияси; генетик мухандисликнинг ўсимликлар селекциясида қўлланилиши; ген мухандислигига асосланган биотехнологиянинг аграр саноатдаги илмий-техник тараққиётни тезлаштиришдаги роли; гибридмалар олиш технологияси ва унинг қишлоқ хўжалигида ва чорвачиликда қўлланилиши ҳамда генетик мухандисликнинг истиқболлари ҳақидаги аниқ билимларни ўрганишдан иборат.

Тирик организмлар ирсий ахборотини сунъий йўл билан маълум мақсадга мувофиқ ўзгартириш жараёни генетик мухандислик фанининг асосий устқурмаси ҳисобланади.

Генетик мухандислик ҳужайра, хромосома ва ген даражасида амалга оширилади:

1. Ҳужайра даражасидаги генетик мухандислик икки ҳужайрани ўзаро қўшиш йўли билан амалга оширилади.
2. Хромосома даражасидаги генетик мухандислик ҳужайра ядросига қўшимча хромосомалар киритиш орқали амалга оширилади.
3. Ген даражасидаги генетик мухандислик ёки ген мухандислиги энг мураккаб бўлиб, қуйидаги босқичлар асосида амалга оширилади:
 - a. Қимматли хўжалик аҳамияти касб этадиган ген функцияси орқали қидириб топилади, ажратиб олинади, клонланади ва тузилиши ўрганилади.
 - б. Ажратиб олинган ген хромосома ДНК си билан рекомбинацияланувчи бирор фаг геноми, траспозон ёки плазмид ДНК си билан бириктирилиб вектор конструкция яратилади.
 - с. Вектор конструкция трансформация усули билан ҳужайрага киритилади ва трансген ҳужайра олинади.

Ҳужайра биотехнологияси – ҳужайра, тўқима ва протопластларни ишлатишга асосланади. Ҳужайраларни манипуляция (фаолиятга қандайдир ўзгаришлар киритиш) қилиш учун, уларни ўсимликдан ажратиб олиш ўсимлик организмидан ташқарида яшаши ва кўпайиши учун шароит туғдириб бериш лозим. Ажратиб олинган ҳужайра ва тўқималарни сунъий озуқа муҳитида, стерил шароитда (*in*

vitro) ўстириш, усули ажратилган тўқималар культураси деб ном олди ва уларни биотехнологияда ишлатиш мумкинлиги сабабли, катта аҳамият касб этди.

Биотехнология узоқ - узоқлардан маълум бўлсада, алоҳида амалий фан сифатида ўтган асрни иккинчи ярмидан бошлаб, инсоният энг аввало ўзи учун ўта зарур бўлган яъни озиқ-овқат, энергетика, заҳира (ресурс), атроф - муҳитни муҳофазаси ва х.к. муаммоларни тубдан янги асосда ечиши зарурлигини сезганидан кейин мужассамлана бошланди. Биотехнологик жараёнлар сунъий озуқа муҳитида ўстирилган микроорганизмлар, ўсимлик ва хайвон тўқималари, ҳужайралари ва оргаларидан фойдаланишга асосланади.

Ҳозирги вақтда дунёнинг кўплаб мамлакатларида биотехнологияни ривожланишига алоҳида эътибор берилмоқда. Бунга асосий сабаб, биотехнологияни бошқа технологияларга нисбатан бир қатор устунликка эгаллигидир. Масалан, биотехнологик жараёнлар жуда кам энергия талаб қиладилар, деярли чиқиндисиз, экологик тоза ва х.к. Шунинг билан бир қаторда, биотехнология стандарт жиҳозлардан ва препаратлардан фойдаланади ва иқлим шароитига қарамасдан ҳамда кўп майдон эгалламаган ҳолда жараёнларни йил бўйи ўтказишга асосланади. Айтиб ўтилган устунликлар, ўсимликларни ва хайвонларни ҳужайралари, тўқималари ва органларига ҳам тегишлидир.

Ажратиб олинган ҳужайралар ва тўқималарни биотехнологиядаги ролини уч йўналишда кўриш мумкин:
Биринчи йўналиш - ажратиб олинган ўсимлик ҳужайрасини тиббёт, ветеринария, косметика ва бошқа соҳалар учун зарур бўлган иккиламчи метаболитлар : алколонидлар, стеронидлар, глюкозидлар, гормонлар, эфир мойлари ва бошқа биологик фаол моддалар синтез қилиш имконияти билан боғлиқ. Маълумки, иккиламчи метаболитлар қаттиқ (агарли) ёки суюқ озуқа муҳитида ўстирилган каллус тўқималардан олинади. Ҳужайра технологияси асосида диосгенин - диоскоре ҳужайрасидан; аймолин - илон рацвольфи ҳужайрасидан; умумий куч берувчи моддалар - женьшен ҳужайрасидан; ва х.к. ажратиб олинади ва тиббиёт ҳамда парфюмерияда ишлатилади. Шунинг эътиборига олиш керакки,

Ўстириладиган ҳужайраларни ҳосилдорлиги, бутун ўсимликни ҳосилдорлигидан анча баланд. Бундай усул билан иккиламчи метаболитлар ажратиб олишни яна бир устунлик томони шундаки, муайян шароитда ўсимликни ўзини ўстириш имконияти бўлмаган шароитда (совуқ ёки иссиқ иқлимли минтақаларда), уларни ҳужайраларини бутун йил мабойинида ўстриш мумкин.

Иккинчи йўналиш – ажратиб олинган ҳужайраларни ўсимликлар селекциясида ишлатиш ва шу орқали тез ривожланувчи, ҳар хил ташқи муҳит таъсирига чидамлик (иссиққа, совуққа, шўрланишга, оғир металлларга қурғоқчиликка, касалликка ва х.к.) ўсимликлар яратиш. Шунинг билан бирга бу йўналиш, ажратилган протопластларни қўшилиши орқали янги ўсимликлар яратиш ҳамда ножинсий (сомотик) гибридлар олишни ҳам ўз ичига олади. Ажратиб олинган протопластларга ген муҳандислиги методлари ёрдамида бегона генларни киритлиши, кейинчалик янги, мерос қоладиган хоссаларга эга бўлган ўсимлик яратишга ҳам олиб келади. Ажратиб олинган чангдон ва уруғ куртакни сунъий озуқа муҳитида ўстириш, гаплоидлар, олиш имконини берса, муртакларни ўстириш – ўсаолмайдиган (эндоспермаси ёмон ривожланган) ўсимликлардан гибрид уруғларетиштириш имконини беради.

Учинчи йўналиш – ажратиб олинган тўқималарни кўпайтириш ва экув материалларини вируслар ва бошқа патогенлардан соғломлаштириш мақсадида ишлатиш. Бу усул, ўсимликларни клонал микрокўпайтириш дейилади ва битта медистемадан йилига юз минглаб ўсимлик олиш имконини беради.

Лабораторияга қўйиладиган асосий талаблар:

Ҳужайра органонидлари билан ишлашда асосан қўйидагилар талаб этилади:

1. Озиқа муҳити тайёрлаш учун махсус жой;
2. Стерил ҳолатда экишни амалга ошириш учун стерил бўлган ламинар-бокс ёки махсус герметик хона;
3. Қаллус культураларни ўстириш учун доимо ҳарорати бир хил ушлаб туриладиган махсус хона ёки термостат.

4. Суспензион ҳужайра культураси учун микробиологик чайқалатгич (качалка).

Кўпчилик тадқиқотчилар озиқа муҳити тайёрлаш учун алоҳида хоналар бўлиши зарурлигини таъкидлашади. Мободо бунинг имкони бўлмаган ҳолларда, чинни ва шиша идишларнинг стериллигини таъминлаш зарур. Яъни хонадаги баъзи бир асбоб-ускуналарда чанглар ва турли хил моддалар бўлмаслиги, масалан: Петри чашкаси устки қисмида, тарозилар ёки рН-метр электродларида кимёвий моддалар қолдиқлари озиқа муҳитга тушмаслигига имкон яратиш зарур.

Экиш амалга ошириладиган хоналар ва асбоб-ускуналарнинг тозаллиги, стериллиги тажриба ишларини амалга оширишда энг зарур манба ҳисобланади. Яъни яхши стерил, тоза ишчи жойида тажриба ишларини олиб бориш, махсус асбоб ускуналар излашдан кўра қулайроқдир.

Ламинар-бокс ҳозирги вақтда тўқима культуралари билан ишлашда, яъни стерил экишларни амалга оширишда энг қулай ва кенг қўлланилаётган ускуна ҳисобланади.

Баъзи бир ламинар-боксларда махсус ультрабинафша чироқлари мавжудки, уни ички юзасини стерил сақлаш учун кечаси билан ёқиб қўйиш мумкин. Аммо, шундай стерилизациядан кейин ҳам ишчи юзасини имкони борича этанол ёки 20% ли фенолнинг сувли эритмасида артиб олиш мақсадга мувофиқдир (бунда албатта қўлқоплардан фойдаланилади).

Ламинар-бокс бўлмаган ҳолларда унчалик катта бўлмаган изоляцияланган хоналарда ишни амалга ошириш мумкин. Бундай ҳолларда ишчи юза қисм тез ва осон стерилланадиган бўлиши зарур ва у ер ҳам (масалан: кимёвий тажрибалар столи) спирт ёки 20% ли фенол билан стерилланади. Бундан ташқари, иш бошлангунча, иш давомида ва иш тугагандан сўнг ҳам ишчи юзанинг (столнинг) икки чекасида бунзен горелкасида олов ёниб туриши лозим.

Юқорида келтирилган талабларга жавоб берадиган стерил хона ташкил этилсагина ламинар-бокслардагидек стерил экишни мувоффақиятли амалга ошириш мумкин.

Ўсимликлар ҳужайра культурасини ўстириш ва сақлаб туриш учун талаб этиладиган асосий физик омиллардан бири

доний ҳарорат ҳисобланади. Кўп сонли бўлмаган каллусли культуралар учун ишчи режими $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ бўлган стандарт микробиологик термостат мақсадга мувофиқ бўлади.

Кўпчилик тадқиқотчилар культураларни қоронғу жойларда ҳам ўстиришади, аммо бундай ҳолларда оддий электр чироқларидан ҳам ёруғлик сифатида фойдаланиш мумкин. Кўп сонли каллусли культуралар тўплами учун эса термостат ҳолига келтирилган ҳарорати 25°C ни ташкил этадиган хоналар талаб этилади.

Ўстириш учун энг қулай бўлгани бу эгилувчан ва трубкасимон люминесцент чироқлардир. Уни культуралар қўйилган қаторнинг қулай жойига жойлаштириш мумкин. Яъни уни илиб қўйиш ёки пастки томондан ёпиштириб қўйса ҳам бўлади. Бундай тизим культураларни ўстиришда ҳар қандай ёруғлик режимидан фойдаланишда қулайдир. Культураларни қоронғуликда ўстириш талаб этилганда ушбу хонада ўстириш мумкин, аммо қоронғу шкафлар ичида ўстириш мумкин эмас.

Суспензион культураларни алмаштириш ва аэрация учун энг арзон ва қулай тизим айланма ҳаракатланадиган качалка ҳисобланади. Бундай качалкалар юзасидан турли хил диаметрли колбаларни жойлаштириш, уларни ҳарорати бир хил бўлган ва ёруғлик билан етарли даражада таъминланган хоналарга ўрнатиш мумкин.

Ўстириш шароитини қатъий назорат қилиш учун эса ёпиқ термостатларда айланма ҳаракатланадиган качалкалар қулайдир. Бундай качалкаларда кундузги ёруғликни берувчи чироқлар, махсус бурамали қопқоқ ва бошқариш дастаклари бўлиб ёруғлик давомийлигини турли хил бошқариш имконини беради.

Ўсимлик ҳужайра культуралари билан ишлаганда качалкада мақсадли совутиш тизимининг мўтадил ишлаши асосий рол ўйнайди. Чунки, качалка маторининг қизиши натижасида камида ичида ҳарорат кескин ошиб кетиши мумкин.

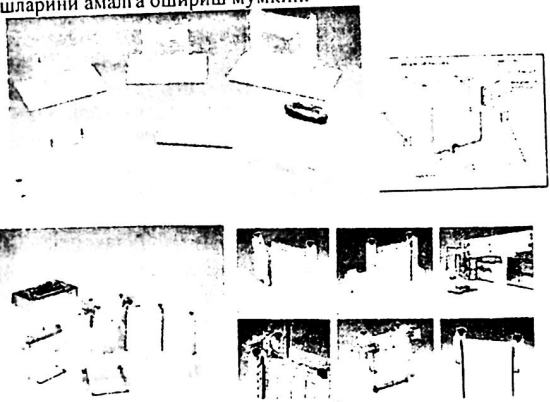
Каллусли культуралар пластинкасимон Петри чашкасида, шиша пробирка зич ёпиладиган қопқоқли пластмассади идишлардан тўқима культураси учун эса банкалардан

фодаланилади. Суспензион культуралар одатда айланасимон тубли шиша колбаларида ўстирилади.

Кичик даражадаги биотехнологик жараёнларни амалга ошириш учун фойдаланиладиган асбоб-ускуналар ва курилмаларнинг асосийлари куйидагилар ҳисобланади: термостат, қуритиш шкафи, ламинар-бокс, ферментёр, микробиологик качалка, рН-метр, аналитик тарозилар, фотоколориметр, центрифуга, электрофорез ускунаси ва х.к.

Уларнинг баъзиларининг расмлари куйида келтирилган бўлиб, улар ҳақида қисқача тўхталиб ўтамиз, батафсил маълумотлар эса мураббий томонидан изоҳлаб берилади.

Электрофорез ускунаси - 1-расмда турли хил ўлчамдаги электрофорез ускунаси акс эттирилган бўлиб, у асосан агарозали гелда ишлашга ихтисослаштирилган. Ушбу ускунадан фойдаланиб, оксиллар молекуляр массасини аниқлаш, уларни турли хил фракцияларга ажратиш ва алоҳида фракцияларни тоза ҳолда ажратиш олиш ишларини амалга ошириш мумкин.



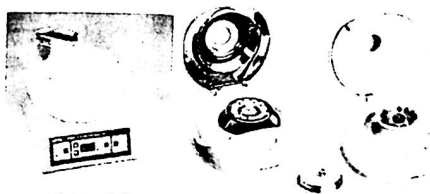
1-расм. Турли хил ҳажмли электрофорез ускуналари ва унинг тузилиш чизмаси

Ҳозирги вақтда электрофорезнинг горизонтал ва вертикал тузилишли шакллари кенгроқ ишлатилади. Замонавий жиҳозланган лабораторияларда капилляр электрофорезлар қўлланилади. Бунинг қулайлик томони ўрганилаётган моддаларнинг микдори жуда кам

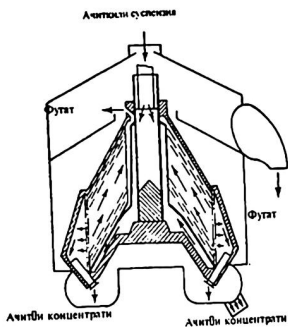
бўлган ҳолларда ҳам етарли даражадаги ишларни амалга ошириш мумкин.

Ушбу электрофорезлардан фойдаланиб ДНК нинг турли хил формаларининг молекуляр оғирликларини аниқлаш ва уларни ажратиш олишни ташкиллаштириш мумкин. Электрофорезда агарозали гелда (кўпинча, SDS, трис HCl иштирокида) масалан, оксилларни молекуляр оғирликка нисбатан бўлиш ва ажратиш парчаланган оксилларнинг изоэлектрик нуқтаси ва молекуляр оғирлигига асосланилади. Электрофорез ускунасида фойдаланиб асосан ўсимлик, ҳайвон ёки микроорганизмларнинг метаболитик моддаларини тоза ҳолда ажратиш олиш мумкин, аммо миқдор жиҳатидан кўпроқ бўлган массани олиш имкониятлари чекланганлиги учун ундан асосан илмий тадқиқот ишларига мўлжалланган моддалар ажратиш учун қўлланилади.

Центрифуга. Центрифугалар асосан суюқликдан мақсаддаги моддаларни ёки компонентларни чўктириб олиш учун қўлланилади. Ишлаш принципи марказдан кочувчи куч ҳисобига асосланади. Центрифугаларнинг турли хил типлари айланиш тезлигига, ҳажмига, иш махсулдорлиги каби кўрсаткичларига боғлиқ ҳолда фарқланади. Ҳозирги вақтда аналитик яъни ультрацентрифугалар ҳам қўлланилмоқдаки, уларнинг айланиш тезлиги 20, 30, 60 ва ҳаттоки 200 минг мартаба тезликни ташкил этади.



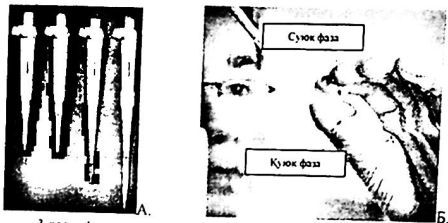
2-расм. А. Турли хил типдаги стол центрифугалари.



2-расм, Б. Ачитки сепаратори

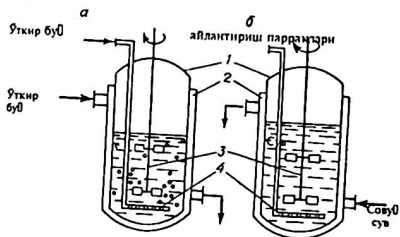
Масалан, 2-расмдагидек, кичик эпиндорфлар шаклидаги идишларни бир неча ўн минг мартаба тезликда айлантириш имкониятига эга бўлган центрифугалар асосан лаборатория текширишлари учун оксиллар, антителлалар, плазмидалар, ДНК ва РНК каби манбаларни ажратиш учун қўлланилади. Шунингдек, 100, 200, 300 ёки ундан катта миқдордаги суюқликлар жой бўладиган махсус стаканларни айлантирадиган центрифугалар (буларни ишлаш принципига кўра ишлаб чиқариш саноати сепараторлар ҳам деб аталади) ҳам борки, уларнинг айланиш тезлиги бир неча минггача бўлиши мумкин (2-расм, Б). Бундай центрифугалардан ишлаб чиқариш корхоналарида жумладан ачиткилар, инсектицид моддалар каби ишлаб чиқариш жараёнларида биомасса тўплаш учун қўлланилади

Автомат-самплерлар (пипеткалар) (3-расм, а) –биотехнологик тажрибаларда асосий иш қуролларидан бири бўлиб, фойдаланилаётган моддалар ёки компонентларнинг жуда кам ўлчамларини ҳам автомат тарзда аниқ ўлчамларини олиш ва куйиш вазифасини ўташга ихтисослаштирилган бўлиб, илмий тадқиқот ишларида қўлланилади. Улар ўлчамлари ва шаклларига кўра фаркланади. Ушбу расмда автосамплер ёрдамида эпиндорф идишида фракцияларга ажратилган компонентни олишда фойдаланиш акс эттирилган (3-расм, б).



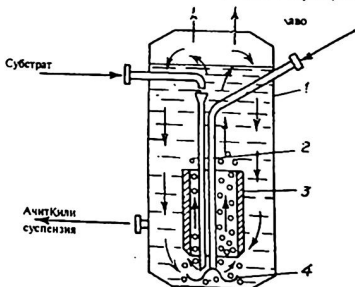
3-расм. Автопипеткалар (сэмплерлар) ва ундан фойдаланиш

Ферментёр – асосан биологик объектларни суюкликда ўстиришга мўлжалланган, барча зарур кўрсаткичларни автомат таъминлаб берувчи ўлчовчи асбоб-ускуналар билан таъминланган бўлади. Ушбу ҳолатнинг баъзи бирларининг технологик чизмаси 4-расмда акс эттирилган.

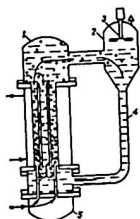


4-расм. А. Озика муҳитни стерилизациялашда ферментёрнинг қиздирилиш (а) ва совутилиш (б) чизмаси

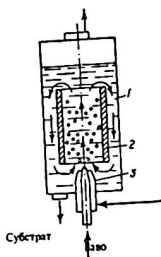
1-ферментёрнинг корпуси; 2-қоплани; 3-аралаштиргич; 4-барботер.



4-расм. Б. Лефрансу тизими ферментатор
1-ускуна корпуси; 2- ҳаво узатувчи; 3- диффузор; 4- қювета.



3-расм. С Газлифтли ферментатор
1-копламалли кувур реактор; 2- сепаратор; 3- механик кўпик босувчи;
4- циркуляцион труба; 5- ҳаво камераси.



4-расм. Д. Форсункали ҳаво тақсимлагичли ферментатор
1- ускуна корпуси; 2 - диффузор; 3 - форсунка.

Ферментёрлар ишлаш типига кўра узлуксиз ва даврий ўстиришга мўлжалланган турлари мавжуд бўлиб, ўстирилайётган объектнинг хусусиятларига кўра танланади.

Турбидостат ва хемостат типигадаги ферментёрлар саноат асосида, кичик ишлаб чиқаришларда ёки тажриба лаборатория ёки ўқув лабораторияларда қўлланилишига кўра ҳажми турли хилда бўлади. Асосан, 3-10 л ҳажмли ферментёрлар ўқув-лабораториялари учун ишлатилса, 10-60 л ҳажмли ферментёрлар тажриба лаборатория ёки кичик ишлаб чиқариш учун қўлланилади. 100 л ёки ундан ортиқ (баъзан бир неча тонна ҳажмли, масалан Берск шаҳридаги микробиологик заводда, инсектицид биопрепаратлар ишлаб чиқариш учун 30 тонна ҳажмли ферментёрлар ишлатилади) ҳажмли ферментёрлар саноат асосида ишлаб чиқариш учун қўлланилади.



4-расм. Ўқув-лаборатория (А) ва тажриба лаборатория ферментёрлари (Б)

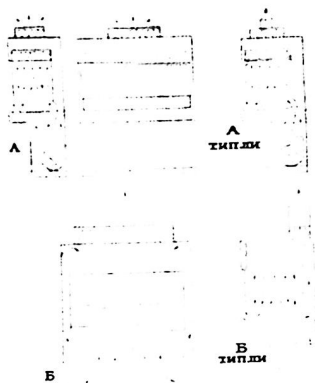
Ламинар-бокс – одатда микробиологик тажрибалар учун қўлланилади. Бундан ташқари биотехнологик жараёнларда ҳам кенг ишлатилиши мумкин. Масалан, ҳужайра органоидларини ажратиш, улар устидан турли хил манипуляцияларни амалга ошириш ҳамда уларни экиш жараёнларида кенг қўлланилади. Микробиологик ламинар бокс ўрнига баъзан махсус изоляцияланган хоаналар ташкил этиш мумкин, уларни бокс-хоналари деб аталади. Аммо, унда келаётган ҳаводан ва одамнинг нафас олишидан чиқаётган микрофлорадан ҳимояланиш чекланганлиги учун тўлиқ талабга жавоб бермаслиги билан характерланади.

Микробиологик ламинар-бокснинг учта синфи тафавут қилинади. Булар биринчи, иккинчи ва учунчи даражали ламинар бокслар деб номланиб, кўпинча иккинчи ва учинчи даражали ламинар бокслар ҳужайра органоидлари билан ишлашда кенг қўлланилади.



5-расм. 1-даражали ламинар бокснинг тузилиш чизмаси ва ташқи кўриниши

TKTI AXBOROT RESURS MARKAZI
№ _____



6-расм. 2-даражали ламнар боксининг тузилиш чизмаси ва ташқи кўриниши.



7-расм. 3-даражали ламнар боксининг тузилиш чизмаси ва ташқи кўриниши.

Махсус бокс хоналарда микроорганизмлар ва ҳужайра органидлари билан ишлаш давомида албатта газ горелкаси баланд босимда ишлаб туриши лозим (8-расм).



8-расм. Махсус бокс-хонада газ горелкаси ёрдамида ишлаш

Талабанинг коллоквиум топшириши учун топшириқлар:

1. Талаба услубий кўрсатмада берилган маълумотлар ва чизмаларни дафтарига кад этган бўлиши;
2. Биотехнология лабораториясида риюя этилиши лозим бўлган қонун-қоидаларни айтиб бериши;
3. Ламинар –боксинг даражалари ва фарқларини чизиб изохлаб бериши;
4. Центрифуга, автосамплер, ферментёрда ишлаш тартиби ва уларнинг аҳамиятлари бўйича маълумот бериши;
5. Центрифуга ускунасидан фойдаланиб суюқликдан биомасса ажратишни амалий бажариб бериши лозим.

Юқорида берилган топшириқларни бажарган талабаларга белгиланган тартибда рейтинг баҳоси қўйилади.

ХУЖАЙРА ВА ТЎҚИМА ТЎПЛАМЛАРИ БИЛАН ИШЛАШ ЖАРАЁНИДА СТЕРИЛЛАШ УСУЛЛАРИ

1) Ишдан мақсад:

Биотехнологик жараёнларнинг моддий асосларидан бўлган ҳужайра органонидларидан фойдаланиб тажрибалар ўтказиш учун зарур бўлган асбоб-ускуналар, зарур материаллар ва идишларни стериллаш усуллари ҳақида маълумотга эга бўлиш.

2) Ишнинг ташкил этилиши: мураббий гуруҳ талабаларини икки гуруҳга (кўпроқ гуруҳчаларга ҳам бўлиш мумкин, фақатгина бунда ҳар бир гуруҳчаларнинг вақт меъёрини тўғри тақимлаш зарур) ажратади.

Биринчи гуруҳ талабалари: ламинар-бокс, асбоб –ускуналар ва озука муҳитини стериллашни ўрганишади;

Иккинчи гуруҳ талабалари: идишларни ва зарур материалларни стериллашни ўрганишади.

Орадан маълум вақт ўтгача (50 минут) ҳар иккала гуруҳ талабалари ишчи ўринларини алмаштиришади.

Жараёнлар давомида мураббий талабаларнинг берган саволларига жавоб бериб бориши ва туғилган муаммоларни ҳал этишда амалий ёрдам бериши лозим.

Дарс (иккинчи жуфтлик) охирида талабалар лаборатория дафтарларига қайд этилган маълумотлар асосида коллоквиум топширади ва машғулотга ажратилган рейтинг балини олади. Рейтинг балини тўплай олмаган талаба кейинги машғулотгача ушбу лаборатория ишини қайта топшириши мумкин.

3) Тушинтириш:

Ажратилган органлар, тўқималар, ҳужайра ва протопластларни ўстиришда стерилликка катта аҳамият бериш зарур. Стерилликни аҳамияти шундан иборатки, ажратилган органлар, тўқималар, ҳужайралар ва протопластларни ўстириш учун тайёрланган сунъий озука муҳитларида микроорганизмлар ҳам жуда яхши ўсади. Микроорганизмларнинг ривожланиши ўстирилаётган ҳужайра ва тўқималар учун икки ёклама хавф туғдиради.

Биринчидан, микроорганизмларнинг яшаш фаолияти даврида озуқа мухитларининг таркиби сезиларли даражада ўзгариб, белгиланган тургун шароитда хужайранинг ўсишини тўхтатади.

Иккинчидан, ўсимликдан ажратилган тўқима, хужайра ва айникса протопластларни микроорганизмлар осонгина зарарлайди.

Айникса, хужайра культураларини ферментёрда ўстириш жараёнини амалга ошириш учун ўта даражадаги стериллик талаб этилади.

Шунинг учун ажратилган орган, тўқима, хужайра ва протопластлар билан олиб бориладиган тажрибалар стерил хоналар, бокслар ёки ламинар-боксларда олиб борилади.

Бокслар, асбоблар, идишлар, ўсимликлар, озуқа мухитлари, пахта тикинлар ва бошқа ишга керакли нарсаларнинг ҳаммаси стерилланади. Умуман олганда стериллаш жараёни талабалар учун янгилик эмас, чунки биокимё, кимё, микробиология каби фанларда стериллашнинг баъзи бир жабҳалари билан таниш бўлганликлари учун ушбу лаборатория ишини бажариш ҳеч қандай қийинчилик туғдирмайди.

Шуни ҳам таъкидлаб ўтиш жоизки, биотехнологик жараёнларда озуқа мухитини стериллаш жараёни микробиологик тажрибалар учун озуқа мухити тайёрлашдан кам фарқ қилсада, фойдаланиладиган таркибий компонентларнинг жуда ҳам кам микдорда ишлатилиши ва кўпинча гармонлар, ўстирувчи факторлар ва витаминлар каби жуда тез бузилувчи таркибга эга бўлганлиги учун диққат билан стериллаш шароитини танлашни талаб этади.

Шунингдек, ушбу жараёнларда талабалар тўлиқ техника хавфсизлиги ва лабораторияда ишлаш қонун ва қоидаларига риоя этишлари талаб этилади.

4) Асбоб-усуналар ва материаллар:

1. 500-700 мл-ли кимёвий стаканлар (2 та);
2. Дистилланган сув учун бир литрли қолба;
3. Спирт, спиртовка ёки табиий газ;
4. Петри ликобчалари (2та);
5. Автоклав;
6. Стерилизатор;
7. Натрий бикарбонатнинг 1%-ли эритмаси;
8. Озуқа мухитли пробиркалар;
9. Қуришиш шкафи;

5) Ишнинг бориши:

Ламинар-бокс стерилизацияси. Ламинарнинг иш олиб бориладиган ички юзаси 70%-ли спирт билан артилади;

Сўнг ламинарга спиртовка, гугурт, 96% спиртли стакан, стерилланган идишлар, асбоблар ва стерилланган сувли колба жойланади;

Меристемалар ажратишда ламинарга бинокуляр лупа ҳам қўйилади;

Ишладан олдин 2 соат давомида ламинар бокс бактериоцид ультрабинафша лампаси билан нурлантирилади;

Ишладан икки соат олдин ламинарнинг ички юзаси 70%-ли спирт билан яна артилади;

Иш бошлашдан аввал қўлларни яхшилаб совун билан ювиб, спирт билан артилади ва стерил оқ халат кийилади, оғзига стерил никоб тутилади.

Идишларни стериллаш. Идишлар қуритиш шкафларида курук иссиқда ёки нам бугда автоклавда стерилланади;

Стериллашдан олдин идишларни яхшилаб ювиб, қуритиш керак;

Идиш ювиш учун турли идиш ювиш воситалари ва хромпик (калий бихроматнинг сулфат кислотасидаги эритмаси) ишлатилади;

Ювилган идишларни дистилланган сувда чайиб, қуритиш шкафида қуритилади;

Стериллашдан аввал ҳаводан инфекция тушишининг олдини олиш учун пробиркалар, колбалар оғзи пахта тиқинлар билан ёпилади ва қоғозга (Иложи борича фальга қоғозга) ўралади;

Сўнгра идишларни қуритиш шкафларига жойлаб 2 соат 160°C да (фальга қоғозга ўралган бўлса 250°C гача) қиздирилади. Бундай қиздиришда бактерияларгина эмас, балки уларнинг споралари ҳам ўлади;

Қуритиш шкафидаги ҳароратни 175°C дан ошириш мумкин эмас, чунки пахта тиқинлар сарғайиб кетади идишлар ўралган қоғоз эса синувчан ҳолга келиб қолади;

Автоклавда босим остида бундан ҳам яхшироқ стериллашга эришиш мумкин, чунки намли иссиқликда қиздирилганда микроорганизмлар ва уларнинг споралари яна ҳам яхши ўлади;

Турли хил стаканлар, Петри ликобчалар, пипеткалар, дистилланган сувли колбалар автоклав қилинади;

Идишлар фальга ёки ўраш коғозларга ўралган ҳолда 25-30 дақиқа 2 атмосферада автоклавланади;

Пипеткаларни автоклавлашда уларнинг юқори қисмига пахта тиқиб, алоҳида-алоҳида қилиб ўралади.

Асбоб –ускуналарни стериллаш. Асбоб ускуналар, скалпел, пинцет, игналар ва ҳаказолар қуритиш шкафида 12 соат давомида 140⁰С куруқ иссиқликда ёки сувда қайнатиб стерилланади;

Темирдан ясалган асбоблар автоклавланмайди, чунки нам буг тасирида улар занглайди ва ўтмаслашади;

Иш бошладан аввал ва иш давомида асбоблар чинни стаканларга солиниб, 96% -ли этил спиртида стерилланади ва спиртовка алангасида қиздириб олинади;

Спиртовка алангасида ланцетлар, пинцетлар ва микробиологик илмоқлар қиздирилади ва стерил коғозлар орасида сакланади;

Стерилланган асбоблар фақатгина бир марталик муолажа учун ишлатилади, қайта ишлатилганида улар яна спиртда стерилланади ва алангада қиздирилади;

Игна ва паккилар спиртга солиб стерилланади.

Материалларни стериллаш. Тажрибада ишлатиладиган пахта, дока, пахта тиқинлар, филътр коғозлари, халатлар ва рўмоллар автоклавда 2 атмосферада 25-30 дақиқа стерилланади.

Ўсимлик материалларини стериллаш. Уруғлар, юқори меристемалар, ўсимликларнинг турли қисмларидан олинган тўқима бўлақларини стериллаш учун турли стерилловчи эритмалардан:

сулеманинг 0,1%-ли эритмаси;

1% ли бром эритмаси;

13 %-ли пергидроль;

3-6 %-ли хлорамин, диоцид;

10%-ли натрий гирохлориднинг сувдаги эритмаларидан фойдаланилади.

Илдиз мевалар, тугунақлар, ўсимликларнинг йўғон поялари совун ва ишқалагич билан оқар сувда яхшилаб ювилади, пўстлогли шилинади, (илдизлар ва илдиз мевалар), дистилланган сувда чайилади ва абсолют спиртга бир неча секундга солиб олинади;

Ўсимлик объектлари стериллангандан сўнг, стерилловчи моддалардан тозалаш учун дистилланган сувда кўп марта чайилиши керак;

Айниқса бромидли сув билан ишлов берилган ўсимлик материалларини диққат билан ювиш керак чунки бромиднинг энг кам миқдори ҳам уруғларнинг ўсишини тўхтатиб қўяди. Бром буғи захарли бўлганлиги учун, бром билан стериллашда албаттда мўрили шкафларидан фойдаланиш керак;

Бром эритмасида факатгина маккажўхори уруғларини стериллашда фойдаланиш тавсия этилади; Ловия, беда, кунгабоқар (пўчоғидан тозаланган) учун –сулема ишлатилади;

Бром ва сулема билан стериллаш вақти 10-15 дақиқани, пергидрол билан стериллаш эса 30 дақиқани ташкил қилади. Меристемалар ва ўсимликларнинг ҳар хил қисмларидан олинган бўлақлари икки мартаба тезроқ стерилланади; Тукли уруғлар (чигит) юқори концентратцияли сульфат кислотасига 5 дақиқага солинса яхши стерилланади; Пергидролдан уруғлар осонроқ ювилади (стерил сув 5-7 марта ўзгартирилганда). Сулемадан сўнг сув 5-6 марта ўзгартирилади;

Бромдан сўнг сув 12 соат давомида, ювишнинг бошида ҳар 30 дақиқа, сўнгра эса ҳар 3 соат давомида алмаштириб турилади;

Антисептиклар билан ишлов бермасдан, помидор, олма, ковок, тамаки ва дуккаклилардан стерил уруғ олиш мумкин. Етилиш даврида бу ўсимлик уруғлари гўшти, ёғочли ёки данакли қатламлар орасига жойлашган бўлади. Соғ зарарланмаган бу мевалар совунли сувда ва спирта бир неча марта ювилади. Сўнг асептик шароитда бўлақларга бўлинади, стерил скалпел билан унинг ичидан уруғлар олинади ва стерил филътр қоғози солинган Петри ликобчаларига солинади.

Озуқа муҳитларини стериллаш . Озуқа муҳитлари босим остида (автоклавда) буг билан стерилланади. Озуқа муҳитлари солинган пробиркалар оғзи пахта тикинлар билан ёпилиб, ўраш қоғозига ўралади, ва 120°C , 1 атмосфера босимида 20 дақиқа давомида автоклафланади.

Совуқ стериллаш. Иссикликка чидамсиз органик суюқликлар бактериялардан майда тешикли (диаметри 0,15-0,45 мкл тешикли) бактериал филътрлардан ўтказиш орқали тозаланади.

1. Петри ликобчалари (2 та), 500-700 мл-ли кимёвий стаканлар (2 та) ва буюм ойначалар пишиқ қозғозга ўралган холда 160°C да 2 соат давомида қуритиш шкафларида стерилланади.
2. Скател, ажратиш ниналари, пинцетлар қуритиш шкафида 140°C да 1 соат давомида стерилланади ва тайёрланган асбоблар ламинардаги қозғоз варақалари орасига жойланади.
3. Оғзи пахта тиқинлар билан ёпилган пробиркалардаги озуқа муҳитлари 1 атмосфера босимида 20 дақиқа давомида стерилланади. Озуқа муҳитли пробиркалар 10-20 тадан қозғозга ўралган бўлиши керак. Бир вақтнинг ўзида ўсимлик материаллари учун дока халтачаларни қозғозга ўраб автоклавланади.

Талабанинг коллоквиум топшириши учун топшириқлар:

1. Талаба услубий кўрсатмада берилган маълумотларни дафтарига қад этган бўлиши;
2. Хужайра органонидлари ўстириладиган шиша идишларни кимёвий стериллаш усулини ва стерилизациялаш давомида риюя этилиши лозим бўлган қонун-қоидаларни айтиб бериши;
3. Ламинар –боксни ишлашга тайёрлаш ва стериллашни билиши ва идишларнинг турли хил турларини стериллашни бажара олиши;
4. Озуқа муҳитини таркибига кўра стериллаш шароитини танлай олиш қобилиятини ёзма ҳолатда (уч вариантда) тайёрлаши;
5. Автоклава идишлар ва озуқа муҳитини стериллаш жараёнини амалий бажариб бериши лозим.

Юқорида берилган топшириқларни бажарган талабаларга белгиланган тартибда рейтинг баҳоси қўйилади.

3-лаборатория иши.

МИКРООРГАНИЗМЛАРДАН ОҚСИЛ МОДДАЛАРИНИ АЖРАТИБ ОЛИШ УСУЛЛАРИ

1-иш. Микроорганизмларни экиш учун озуқа муҳити тайёрлаш ва стерилизация қилиш ҳамда продуцент суюқ ва қаттиқ озуқа муҳитида ўстириш

1) **Ишдан мақсад:** Ўрганилаётган бактерияларнинг биомассасини кўпайтириш учун озуқа муҳити тайёрлаш, стериллаш, унга продуцентларни экиш ва биомасса олишни ўрганиш.

2) **Ишнинг ташкил этилиши:** мураббий гуруҳ талабаларини икки гуруҳга ажратади.

Биринчи гуруҳ талабалари: суюқ озуқа муҳити таркибини тузади, стериллизация қилишади ва продуцентни экиб, зарур кўрсаткичларни таъминлаган ҳолда микробиологик качалкага идишларни жойлаштиришади. Гуруҳчадаги талабаларнинг ҳар иккитаси турли хил ҳажмдаги суюкликка озуқа таркиби тузишлари лозим;

Иккинчи гуруҳ талабалари: қаттиқ озуқа муҳити тайёрлашади, стериллизация қилиб, продуцентларни экишади (Петри лycopчaларига) ва термостатга жойлаштиришади. Гуруҳчадаги талабаларнинг ҳар иккитаси турли хил ҳажмдаги суюкликка озуқа таркиби тузишлари лозим;

Жараёнлар давомида мураббий талабаларнинг берган саволларига жавоб бериб бориши ва тугилган муаммоларни ҳал этишда амалий ёрдам бериши лозим.

Дарс (иккинчи жуфтлик) охирида талабалар лаборатория дафтарларига қайд этилган маълумотлар асосида коллоквиум топширади ва машгулотга ажратилган рейтинг балини олади. Рейтинг балини тўплай олмаган талаба кейинги машгулотгача ушбу лаборатория ишини қайта топшириши мумкин.

Лаборатория ишигача техник ходим ёки лоборант талабалар учун 2 сутка давомида колбаларда ва косякларда ўстирилган (Петри лycopчaсида ўстириш ҳам мумкин) продуцент микроорганизм культураси ва стерил идишлар билан таъминлаши лозим. Шунингдек, автоклавни зарур вақтда қўшиб, стрeйллaш жараёнига тайёрлаб беради. Бундан ташқари микробиологик качалкада қолдириладиган культурал суюкликни назорат қилиш ва кейинги машгулотгача саклашни таъминлаши зарур.

Мураббий томонидан ҳар иккала гуруҳнинг бир вақтда стериллаш жараёнини амалга оширилиши назорат қилиниди. Стерилизация вақтида эса зарур бўлган маълумотларни талабалар дафтарларига қайд этиб қўядилар.

3) **Тушинтириш:**

Айни вақтда жаҳон аграр саноати амалиётида микроб инсектицид биопрепаратлардан қишлоқ хўжалиги экинларини зараркунанда хашаротлардан ҳимоя қилишда унумли фойдаланиб келинмоқда.

Бу борада *Bac.thuringiensis* турига мансуб энтомопатоген бактериялар асосида тайёрланаётган инсектицидлар асосий ўрин тутди. Шу боисдан *Bac.thuringiensis* бактерияси асосида биопрепарат тайёрлаш учун мўтадил ва арзон озиқа муҳити танлаш катта амалий аҳамият касб этади.

Адабиётлардан маълумки *Bac.thuringiensis* бактерияси штамларини ўстириш учун асосан глюкоза қўшилган маккажўхори, ачитқи ва қуруқ ачитқи экстрактлари асосида тайёрланган озиқа муҳитларидан фойдаланилади.

Маълумки, *Bac.thuringiensis* бактерияларини биотехнология саноати миқёсида ўстириш учун таклиф этилган маккажўхори экстракти ва глюкоза сақловчи озиқа муҳити эхтиёжга етарлича жавоб бермайди, шунингдек, маккажўхори экстрактининг беқарорлиги ва глюкозанинг танқислиги бу озиқа муҳити ўрнини босадиган арзон ва мўтадил озиқа муҳити манбаларини топишни тақазо этади.

Шу боисдан мазкур ишда биз *Bac.thuringiensis* энтомопатоген бактерияси штамлари учун куйидаги озуқа муҳитида ўстиришни тавсия этамиз: стандарт озиқа муҳити: Пептон-1,0; NaCl-0,05; K_2HPO_4 -0,05; $MgSO_4$ -0,02; (pH 7,0) (1л. суюклик учун). Бунда культуралар юкори даражада маҳсулдорлик кўрсатади. Ушбу озуқа муҳити асосида асосан лаборатория ишлари бажарилади.

Унинг асосида ишлаб чиқаришни ташкиллаштириш эса иктисодий самарадорликка олиб келиши мумкинлиги исботлаб берилган. Шунинг учун лаборатория шароитида биз мақсадимиз факатгина ушбу бактериялар синтез қиладиган кристалл оксилларни ўрганиш бўлганлиги учун хоҳлаган озуқа муҳитидан фойдаланишимиз мумкин.

Куйидаги расмда ўрганилаётган бактериянинг спора ва кристалл хосил қилиши акс эттирилган бўлиб, талабалар микроскоп остида шу шаклни аниқ кўришлари талаб этилади.



бактерияларнинг спора-кристалл ҳосил қилиши

4) Асбоб-усуналар ва материаллар:

- ✓ 500-700 мл-ли кимёвий стаканлар (2 та);
- ✓ дистилланган сув учун колбалар;
- ✓ Петри ликовчалари (зарур микдорда);
- ✓ картошка доналари (зарур микдорда мураббий томонидан таъминланади);
- ✓ *Bacillus thuringiensis* бактериясининг тайёр культураси (зарур микдорда мураббий томонидан таъминланади);
- ✓ Автоклав;
- ✓ Қуритиш шкафи;
- ✓ Суюк озук мухитида ўстириш учун (1 ёки 2 литрли колбалар);
- ✓ Термостат;
- ✓ Микробиологик качалка;
- ✓ Центрифуга;
- ✓ Микроскоп ва зарур бўёқлар;
- ✓ рН-метр.
- ✓ Тарозилар.

5) Ишнинг бориши:

Микроорганизмлар учун озук мухити тайёрлаш, уни стерилизациялаш ва унга продуцентларни экиш усуллари билан микробиология фанининг лаборатория машғулотларида старли даражада танишганлиги сабабли талабалар ушбу лаборатория ишини куйидаги тавсиялар асосида бажаришади:

Фойдаланиладиган продуцент: *Bacillus thuringiensis* бактерияси штамми лаборатория музейидан техник лоборант томонидан махсус косяклар экилган ҳолда берилади.

Продуцентни ўстириш ва сақлаш. Культура агар-агар қўшилган картошкали суюқ ва қаттиқ озуқа муҳитларида 28-30°C ҳароратда 5 кун давомида ўстириб (суюқ озуқа муҳити учун микробиологик қачалкада; қаттиқ озуқа муҳити учун термостатда) олинади.

Озиқа муҳитлари. Бактерияларни ўстириш ва сақлашда қуйидаги озиқа муҳитларидан фойдаланиш мумкин: гўшт пептонли агар (ГПА), гўшт пептонли шўрва (ГПШ), Хоттингер озиқаси, картошкали агар ва сусло-агар (маъқул озуқа муҳити мураббий томонидан тавсия этилади).

Дастлабки экув материални тайёрлаш. Экиш материални ўстириш учун агарли картошка озиқа муҳити косякида 2 кун давомида 28-30°C ҳароратда ўстирилган культурадан фойдаланилади (техник лоборант томонидан таъминланади); Шундан кейин, культура сифими 750 мл бўлган колбаларда 100 мл озиқа муҳитига экилиб, чайқалатгичда (200 тез/мин) 48 соат давомида 28-30°C ҳароратда ўстирилади (100 мл озиқа муҳитига 100 млн/хужайра). Ушбу культура биомассаси озиқа муҳитидан центрифугалаш усулида (5000 тез/мин) ёки Зайцев фильтирида ажратиб олинади (маъқул усул мураббий томонидан тавсия этилади).

Стерилизациялаш шароити. Озиқа муҳити 105-110°C ҳароратда 1 атмосфера босимда 20 мин. давомида стерилланади. Озиқа муҳитининг рН кўрсаткичи: стерилизациягача 7,0-7,2 ва стерилизациядан кейин 6,8-7,0 га тенг бўлиши лозим (зарур бўлганда рН кўрсаткичи мўтадиллаштирилиши керак, культуранинг мўтадил ўсиб ривожланиши учун озиқа муҳити рН кўрсаткичини 7,4 да ушлаб туриш мақсадга мувофиқдир).

рН кўрсаткичи (суюқ озуқа муҳити учун). рН кўрсаткичи ферментация жараёнигача 6,8-7,0 бўлиши керак; ферментация жараёни охирида рН кўрсаткичи кўтарилиб кетади (8,0). Табиийки озиқа муҳитининг ишқорий ҳолатга

Ўтиши кристалларни кичик бўлакларга бўлиниб кетишига олиб келади ва бу кейинги кристалл оқсилларни ажратиб олишда қийинчилик туғдиради. Шу боисдан ферментация жараёни тугагандан сўнг, биомассани ажратиб олишда культурал суюқликнинг рН кўрсаткичини 6,2-6,4 даражасигача келтириб оламиз. Бунда мақсадга мувофиқ бўлган барча кристалл оқсилларни центрифугалаш (5000 тез/мин. 20 мин) орқали ажратиб олишга эришилади. Бунинг учун HCl нинг кучсиз эритмаларидан фойдаланиш мумкин.

2-нш. Бактериялардан спора ва кристалларни ажратиб олиш ва микроскопда текшириш

1) **Ишдан мақсад:** ўрганилаётган бактерияларнинг биомассасини ажратиб олиш, биомассадаги споралар ва кристалларни алоҳида ажратиш ва уларнинг микдорини микроскопик таҳлил қилишни ўрганишдан иборат.

2) **Ишнинг ташкил этилиши:** мураббий гуруҳ талабаларини икки гуруҳга ажратади.

Биринчи гуруҳ талабалари: культурал суюқликдан микроб биомассасини центрифугалаш усулида ажратиб олишади ва ундан белгиланган тартибда кристалл оқсилларни ажратишади;

Иккинчи гуруҳ талабалари: қаттик озука мухитида ўстирилган биомассани йиғиб, ундан споралар ва кристалл оқсилларни белгиланган тартибда ажратишади.

Ҳар иккала гуруҳ талабалар оқсилларни куйидаги чизма асосида бажаришлари ва микроскопи таҳлил қилишлари лозим. Микроскоп остида кўрган спора ва кристалл оқсиллар расмлари дафтарларга чизиб олинади.

Дарс (иккинчи жуфтлик) охирида талабалар лаборатория дафтарларига қайд этилган маълумотлар асосида коллоквиум топширади ва машғулотга ажратилган рейтинг балини олади. Рейтинг балини тўплай олмаган талаба кейинги машғулотгача ушбу лаборатория ишини қайта топшириши мумкин.

3) Тушинтириш:

Маълумки, оқсиллар тирик организмдаги морфологик ва бошқа ўзгаришларнинг асосини белгилайди ва ўзгарган генотип

ҳақида информация берувчи биополимер модда ҳисобланади. Кристалл кўринишдаги оқсилларнинг функционал ва аминокислоталари таркибини ўрганиш уларни тоза ҳолда ажратиб олиш муаммосини туғдиради. Ушбу бактерияларда, кристалларни спора, вегетатив ҳужайра ва уларнинг фрагментларидан ажратиш учун асосан қуйидаги усуллардан фойдаланилади: хлороформ-сув, тетрабром этан-сув, тўртхлорли углеводород-1% ли натрий сульфат, полиэтиленгликол 6000-декстрансульфат натрий 500, флотация, CsCl зичлиги градиентида қаватида центрифугалаш ва х.к. Аммо ушбу усуллар ёрдамида *Bac.thuringiensis* культураларидан тоза кристаллар ажратиб олиш катта қийинчилик туғдиради. Шу боисдан штаммлардан кристалларни ажратиб олишда биз Пендлтон усулидан маълум бир ўзгартириш киритган ҳолда қуйидаги тартибда иш олиб бориш тавсия этамиз. Пендлтон усулида икки фазали (1% ли натрий сульфат-п-кислота) тозалаш усулидан фойдаланилган бўлса, биз биринчи босқичдаги гомогенизаторда аралаштириш ва тиндиришдаги 1% ли натрий сульфат ўрнига культуранинг ўстиришда фойдаланилган суюқ озиқа муҳитидан, охириги босқичда эса сувдан фойдаланамиз.

Пендлтон усулини бундай модификация қилиш бизга *Bac.thuringiensis var.thuringiensis* бактерияси штаммларидан 99% дан кўпроқ тоза кристалл ажратиб олиш имконини беради.

Шу нуқтаи назардан табиий ва мутант штаммларнинг умумий оқсил спектрларини қиёсий ўрганиш улар геномидаги молекуляр ўзгаришларни фарқлашга ва кейинги биотехнологик жараёнларни бажаришга ёрдам бериши мумкин. Ушбу оқсилларни тоза ҳолда ажратиб олиш қишлох хўжалиги, медицина ва фундаментал тадқиқотларда катта аҳамиятга эга.

Талабалар иш давомида ушбу культураларнинг қуйидаги расмлардагидек манзараларни кўришлари мумкин:



Продуктларнинг вегетатив ҳужайралари

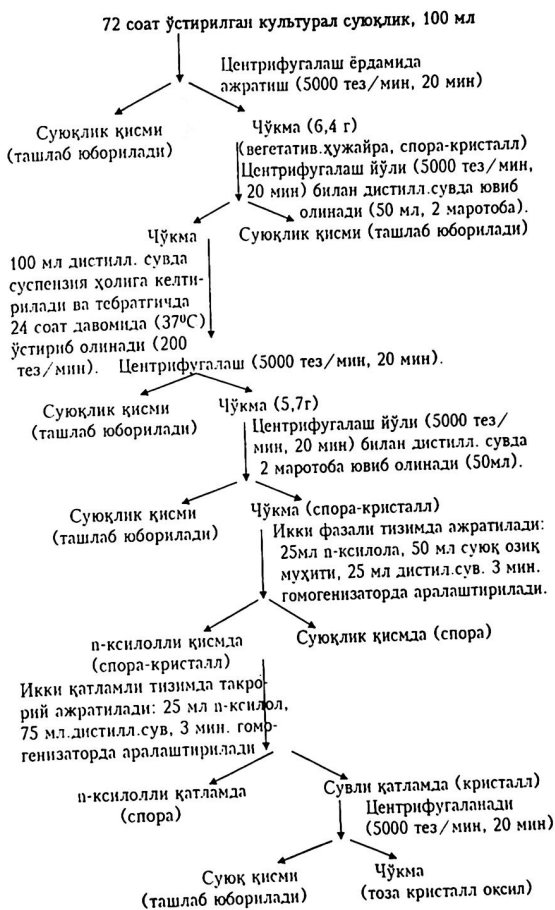


Спора ва кристалли оксиллар кўрinishи

4) Асбоб-усуналар ва материаллар:

- ✓ 500-700 мл-ли кимёвий стаканлар (8 та);
- ✓ п-ксилол (200 мл);
- ✓ дистилланган сув ва бир литрли колбалар;
- ✓ Петри ликобчалари (зарур микдорда);
- ✓ Суюк озуқа мухитидан биомассани чўктириш учун эпиндорф ёки центрифуга стаканлари (зарур микдорда);
- ✓ Центрифуга;
- ✓ Микроскоп ва зарур бўёқлар;
- ✓ рН-метр.

5) Ишнинг бориши: талабаларга куйидаги чизма асосида ишлаш тавсия этилади:



Талабанинг коллоквиум топшириши учун топшириқлар:

1. Талаба услубий кўрсатмада берилган маълумотлар ва расмларни дафтарига қад этган бўлиши;
2. Озуқа муҳити тайёрлашнинг уч хил вариантыни (ҳар хил ҳажмда) тузиб кўрсатиши;
3. Стерилизациялаш ва ўстириш шароитларини билиши;
4. Микроскоп остида продуцентнинг шаклини, унинг зарур метаболитик моддаси шаклини чизиб кўрсатиши;
5. Продуцентдан оксил моддаси ажратишнинг усулини айтиб бериши ва амалда бажара олиш даражасини кўрсата олиши;
6. ҳар бир гуруҳ ва кичик гуруҳчалардаги талабалар ажратган оксил ва продуцентнинг спораларини лаборантга топшириши лозим бўлади.

Юқорида берилган топшириқларни бажарган талабаларга белгиланган тартибда рейтинг баҳоси қўйилади.

ОЗУҚА МУҲИТИДАГИ ВА КУЛЬТУРАЛ СУЮҚЛИҚДАГИ ГЛЮКОЗА МИҚДОРИНИ АНИҚЛАШ

1) Ишдан мақсад:

Ўтказиладиган ўқув жараёнидан мавзунини ўзлаштириши натижасида талабалар қуйидагиларни билади:

микроорганизмларни ўстириш жараёнида биологик кўрсаткичларни аниқлашнинг асосий усулларини; биореакторларнинг масса алмашилиш тавсифи, асосий қонуниятларини ва ҳисоблаш формулаларини ўзлаштиради.

Талабалар олдиндан белгиланган хусусиятли культурал суюқлик олиш бўйича бир қадар характерли бўлган технологик жараёнларни бажариш бўйича кўнимкларга эга бўладилар.

2) Ишнинг ташкил этилиши:

Машгулотда вақт тақсимоти

№	Ўқув саволлари	Ажратилган вақт, минут
1	Кириш (мавзу бўйича маъруза тарзида тушинтириш берилади)	5
2	Асосий назария	20
3	Амалий қисм: 1. Ачиткиларни хемостат усулида ўстириш давомида k -кўрсаткичини аниқлаш; 2. k_s , k_{ps} , G , Y , η - кўрсаткичларини аниқлаш;	100
4	Экспериментал маълумотларни умумлаштириш ва тажриба баённомасини ёзиш;	20
5	Лаборатория ишини ҳимоя қилиш;	10
6	Яқунловчи қисм.	5
Жами:		160 минут

Ўқитувчи ўстириш усулларини ўргатиш учун талабаларни икки гуруҳга ажратади:

Биринчи гуруҳдаги талабалар: озуқа муҳити тайёрлаш ва культурал суюқликдаги глюкозани аниқлашни ўрганишади.

Иккинчи гуруҳдаги талабалар: ачиткиларни хемостат усулида ўстириш ускунасига қуйилишини кузатадилар;

Ўстириш ускунасида ўстириш жараёнларини лаборатория мудири, яъни техник ходим бажариб бериши лозим.

Ҳар гуруҳдан 2-3 та талаба биопрепарат олишнинг асосий режимини бажариб кўриши керак. Ишнинг бориш жараёнида ўқитувчи талабаларнинг саволларига жавоб бериб боради, талабалар эса ишчи дафтарларига қайд этиб боришлари керак.

Шундан кейин (50 минутдан сўнг) талабалар ишчи ўринларини алмаштиришади. Ишчи ўринни алмаштириш режаси кейинги жадвалда акс эттирилган:

Озука муҳити ва экув материални тайёрлаш учун вақт меъёрлари

№	Бажариладиган иш	Вақт, минут	Ишнинг натижаси
1	Глюкоза асосида 3 л (ўзгариши мумкин) озука муҳити тайёрлаш	10	Озука муҳити тайёрланади
2	Ачиткидан экув материали тайёрлаш	10	Экув материали тайёрланади
3	Культурал суюкликдаги глюкозани аниклаш	15	Сарф бўлган глюкоза микдори аникланади
4	Микроскопик усулда хужайралар сонини аниклаш	15	Микроорганизмлар хужайраси кўпайиши аникланади

Ачиткиларни ўстириш режаси

№	Бажариладиган иш	Вақт, минут	Ишнинг натижаси
1	Ачиткиларни хемостат режимда турли хил F куйилиш ораликларига ўстириш	50	Ҳар бир F кўрсаткичидан
2	Ушбу режимдан намуналар танлаш ва лабораторияга топшириш		

Тадқиқот натижаларини таҳлил қилиш ва қайта ишлаш ушбу вақт тақсимотига киритилмаган. Буни талабалар мустқил бажаришлари мумкин. Зарур бўлганда 2 соат аудотория машғулоти тарзида ўтиш мақсадга мувофиқ бўлади.

3) Тушинтириш:

Маълумки, ҳар қандай биотехнологик ёки микробиологик ишлаб чиқариш саноатида (нон ва нон маҳсулотлари ишлаб чиқариш,

алкоголли ёки турли хил шарбат ичимликлари ишлаб чиқари ва х.к.) продуцентларни ўстириш ва улардан махсулотлар олиш жараёни тайёрланадиган озука мухити таркибини тўғри тузиш ва олинган ёки олинадиган махсулотлар ҳақида тўғри тахлилий хулосалар чиқариш талаб этилади.

Ишлаб чиқариш давомида, сарфланадиган хом-ашё миқдори, унинг микроорганизмлар томонидан ўзлаштирилиши ва олинадиган махсулотнинг миқдори каби кўрсаткичлар асосий эътибор талаб этадиган омиллар ҳисобланади.

Ушбу ишда озука таркибига киритилган глюкоза миқдорининг сарф бўлиши ва продуцентнинг миқдори аниқланади. Ҳар иккала кўрсаткичдан келиб чиқиб глюкозанинг сарфи ва мақсаддаги махсулотнинг чиқиши каби асосий кўрсаткичлар ҳақида маълумот олиш мумкин.

4) Зарур асбоб-ускуналар ва материаллар:

1. Ферментёр (зарур ҳолларда микробиологик качалкадан ҳам фойдаланиш мумкин);
2. pO_2 аниқлагичи;
3. компрессор (P- 1 атм. кам бўлмаслиги лозим);
4. Айланма тубли колбалар (250-350 мл), ўлчов найчалари – бюреткалар (500-300 мл);
5. Мензуркалар (5, 10, 25, 300 мл), пипеткалар (2-5 мл);
6. 0,5-1,0 н. натрий сульфит эритмаси;
7. 0,1 н. натрий тиосульфат эритмаси;
8. 0,1 н. йод эритмаси;
9. Глюкоза – 1 кг (зарур миқдори олиниши мумкин);
10. Этил спирти -0,5 кг;
11. *S.serevisiae* культураси (75% намлик ҳолатидаги 100 г курук препарат);
12. Глюкоза миқдорини аниқлаш учун реактивлар тўплами.

5) Ишнинг бориши:

1) Озука мухити тайёрлаш учун:

- ✓ 5 литр ўлчамли стерил идишга 0,5 кг глюкоза солинади;
- ✓ 0,1 г NaCl, MgSO₄, KCl олиниб, ушбу идишга солинади;
- ✓ Ушбу идишга 36⁰C ҳароратли дистилланган 3 л сув куйилади ва яхшилаб аралаштирилади;
- ✓ Фотоколометрик усулда глюкоза миқдори аниқланади;
- ✓ Тажриба баённомасини тўлдирилади.

2) Экув материални тайёрлаш учун:

- ✓ 50 г. *S.serevisiae* ачитқиси ўлчаб олинади;
- ✓ 500 мл ҳажмли идишга 300 мл дистилланган 36⁰C ҳароратли сув куйиб олинади;
- ✓ Ўлчаб олинган ачитқи намунаси ушбу идишга яъни сувга солиниб яхшилаб аралаштирилади;
- ✓ Микроскопик усулда экув материали миқдори назорат қилинади;
- ✓ Тажриба баённомаси тўлдирилади.

3) Ачитқиларни ўстиришни бошлаш учун:

- ✓ 36⁰C ҳароратли 5 л стерил озука мухити ўстириш ускунасига куйилади (зарур бўлганда терморегуляторни қўшиш мумкин);
- ✓ 300 тез/мин. да айланадиган аралаштиргич (мешалка) ёқилади ва унга экув материали куйилади;
- ✓ Жараён 15-20 минут давом эттирилади, унга зарур бўлганда кўпиксизлантирувчи (10 мл) модда қўшилади;
- ✓ Шундан кейин хемостат режими бошланади. Бунинг учун ўстириш ускунасига алоҳида идишдаги озука мухити қўшилади, яъни канча миқдорда F куйилса, бир вақтнинг ўзида шунча миқдордаги культурал суюклик ажратиб олинади;
- ✓ Ушбу режимда ҳар 5 минут давомида 5 мл миқдорда пробиркаларга алоҳида-алоҳида намуналар олинади ва глюкоза миқдори ва микроорганизмлар сонини таҳлил қилиш учун олиб қўйилади;
- ✓ Намуналарнинг миқдорлари аниқланади;
- ✓ Ачитқилар миқдори микроскопик таҳлил ва фотоколометрик усулда аниқланади;

✓ Қуйидаги жадвалга олинган натижалар қайд этилади:

Тадқиқот натижалари

Намуналар №	Тажриба натижалари		Ҳисоблаш натижалари		
	F, л/саот	S _{чиқити} г/л	$D = F_1 / V_p$ саот	1/S	1/k = 1/D, саот
1					
2					
3					
4					

Талабанинг коллоквнум топшириши учун топшириқлар:

1. Талаба услубий кўрсатмада берилган маълумотлар ва чизмаларни дафтарига қад этган бўлиши;
2. Озуқа муҳити тайёрлашни билиши ва амалда кўрсатиб бериши;
3. Озуқа таркибидаги глюкоза миқдорини фотоколметрик усулда аниқлай билиш;
4. Экув материалидаги продуцентлар миқдорини микроскопик назорат қила олиши;
5. Культурал суюкликдаги глюкоза миқдори ва микроорганизмлар сонини ҳисоблаб боришни амалга ошириши ва олинган натижалар асосида юқрида берилган жадвални тўлдиришлари лозим.

Юқорида берилган топшириқларни бажарган талабаларга белгиланган тартибда рейтинг баҳоси қўйилади.

**2-иш. Олинган тажриба натижаларини қайта ишлаш
(ҳисоблаш)**

1. D, S^{-1}, k^{-1} кўрсаткичларини ҳисобланг;
2. $1/k = f(1/S)$ графигини тузинг;
3. Ушбу графикдан $1/k_m \times \text{соат}$ ёки соат^{-1} , шунингдек k_s ни қуйидаги формула бўйича аниқланг: $k_s = k_m \times \text{tg} \alpha_1, \text{кг/м}^3$.
4. $S-S_0, S[k(k_s+S)]^{-1}$ кўрсаткичини ҳисобланг ва юқоридаги жадвални тўлдилинг.
5. $S[k(k_s+S)]^{-1} = f(S_0-S)$ графигини тузинг.
6. k_{ps} кўрсаткичини қуйидаги формула бўйича ҳисобланг: $k_{ps}(\text{tg} \alpha_2 \times k_m)$.
7. k_s ва k_{max} кўрсаткичини аниқлаштинг. Бунинг учун ушбу графикни тузинг: $k_{ps}[k(k_{ps}+S_0-S)]^{-1} = f(S^{-1})$. Қуйидаги формула бўйича $k_s = k_m \times \text{tg} \alpha_3$ k_s ни ҳисоблаш учун графикдан k_m ва $\text{tg} \alpha_3$ ни аниқланг.
8. Ўстириш ускунаси самарадорлигини (G) қуйидаги формула бўйича ҳисобланг:

$$G = k_{max} \frac{S_0 - \alpha_x}{k_{ps} + S_0 - \alpha_x} \cdot \frac{k_{ps}}{k_{ps} + \alpha_x} \cdot x$$

9. Иқтисодий коэффиценти (Y) қуйидаги формула бўйича ҳисобланг:

$$G_{\text{ўртача}} = \frac{S_0 - S}{\alpha_r}, \quad Y = \frac{X_k - X_0}{S_0 - S}$$

бу ерда α - кг/кг биомасса бирлиги ҳосил бўлиши учун сарфланадиган субстрат миқдори.

ТАЛАБАГА ЭСЛАТМА

Берилган топшириқларни тўлик бажарган талабага куйидаги тартибда рейтинг бали қўйилади: жорий баҳолаш талабанинг лаборатория машғулотидаги ўзлаштиришини аниқлаш учун қўлланилади ва умумий рейтинг балининг 40%-ини ташкил қилади.

Максимал балл: 40 балл;

Саралаш балл: 22 балл;

Биринчи икки ойлик машғулотларда 20 балдан охириги ўқув ойлигида 20 балдан баҳоланади.

Ҳар бир амалий машғулотда жорий баҳолаш сўров ўтказиш, савол-жавоб ва лаборатория ишини топшириш каби шаклларда амалга оширилади.

Талабага жорий баҳолар бутун балларда қўйилади.

Талабанинг лаборатория машғулотларини ўзлаштириш даражаси куйидаги меъзон асосида аниқланади:

Баҳолаш кўрсаткичи	Баҳолаш мезонлари	Рейтинг бали
Аъло, 86-100%	Лаборатория ишини мавзусининг назарий асослари бўйича ҳар томонлама чуқур ва мукамал билимга эга. Лаборатория ишларини ижодий ва илмий ёндошган ҳолда назарий билимлар асосида тушинтира олади. Микроорганизмларни ўстириш учун озуха мухити таркибини аниқлай олади, озуха мухити тайёрлаш ва уларни стериллаш усулларини, микроорганизмларни ўстириш ва ўстириш ускуналари билан ишлаш усулларини, маҳсулот ажратиш ва ажратиш ускуналари бўйича тўлик тушунчага эга ва ишларни мустақил равишда амалга ошира олади. Ҳисобот тўлик расмийлаштирилган. Олинган натижалар таҳлили мантиқан тўғри ва аниқ.	34-40

<p>Яхши, 71-85%</p>	<p>Лаборатория ишини мавзуси назарий асослари бўйича билимга эга. Лаборатория ишларини тушинади. Зарур микробиологик тушунчаларга эга. Ҳисоблаш тажрибаларини ўқитувчи ёрдамида ўтказиб, олган натижаларни тушинтира олади. Ҳисобот яхши расмийлаштирилган. Олинган натижалар таҳлили тўғри.</p>	<p>28-33</p>
<p>Қониқарли, 56-70%</p>	<p>Лаборатория ишини мавзуси назарий асослари бўйича билими тўлиқ эмас. Лаборатория ишларини тушинади. Микробиологик намуналар ва зарур ишлаб чиқариш жараёнларини тушинтиришда қийналади. Ҳисоблаш тажрибаларини ўқитувчи ёрдамида ўтказа олади. Ҳисобот расмийлаштиришда ва олинган натижалар таҳлил қилишда камчиликлар мавжуд.</p>	<p>22-27</p>
<p>Қониқарсиз 0-56%</p>	<p>Лаборатория ишини мавзуси назарий асослари бўйича билими жуда кам. Микробиологик намуналар ва зарур ишлаб чиқариш жараёнларини тушинтиришда қийналади. Лаборатория тажрибаларини ўтказа олмайди. Ҳисоботда келтирилган маълумотларни тушинтириб бера олмайди.</p>	<p>0-21</p>

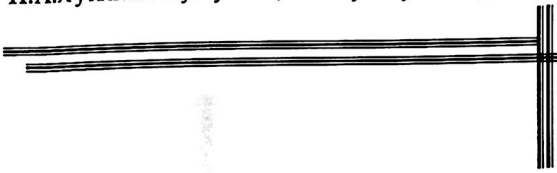
Фойдаланиш тавсия этиладиган адабиётлар рўйхати

1. Виестур У.Э. и др. Биотехнология, биологические агенты, технология, аппаратура. Рига., Зинате. 1987.С.261.
2. Дебабов В.Г. Биотехнология современные методы создания промышленных штаммов микроорганизмов. Москва 1988. С.206.
3. Беккер М.Е. и др. Биотехнология.М., Агропромиздат.1990. С.333.
4. Быков А.В. и др. Микробиологическое производства биологических активных веществ и препаратов. М., Высшая школа. 1987. С.144.
5. Мазин А.В., Краев А.С., и др. Методы молекулярной биологии и генной инженерии. М., Наука, 1990. С.248.
6. Пашенко Л.П. Биотехнологические основы производства хлебобулочных изделий. Мир. 2002, С. 368.
7. Қ.Д.Давранов., Н.А.Хўжамшукуров. Умумий ва техник микробиология. Тошкент, ТошДАУ нашриёти, 2004 йил. 279 бет.
8. Шевелуха В.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. М.,Высшая школа. 1989
9. Ш.И.Хакимова. Микробиология ва биотехнология асослари фанидан маъруза матнлари. ТошКТИ, 1999 й. 138 С.
10. Африкян Э.К. Энтмопатогенные бактерии и их значение. Ереван. 1973.
11. Р.Г.Бутенко. Биотехнология. Клеточная инженерия. Москва. 1987. С. 125
12. В.А.Быков. Биотехнология. Производство белковых веществ. Москва. 1987. С.142
13. Кандыбин В.Н. Микробиологическая средства защиты растений /Научные основы защиты растений./М., 1984
14. Глеба Ю.Ю., Сыткин К.М. Клеточная инженерия. Киев., Наукова думка. 1984
15. Яровенко В.Л. Производство ферментных препаратов из грибов и растений. Москва 1970 Пищ.промизд. С.443

МУНДАРИЖА

№	Мавзу номи	Ажратил-ган соат	бет
1	Биотехнология лабораториясига қўйиладиган асосий талаблар ва асбоб-ускуналар билан ишлаш тартибини ўрганиш	4	3
2	Хужайра ва тўқима тўпламлари билан ишлаш жараёнида стериллаш усуллари	4	19
3	Продуцентларни ўстиришга сарфланаётган глюкоза миқдорини аниқлаш. 1-иш. Микроорганизмларни экиш учун озука мухити тайёрлаш ва стерилизация қилиш ҳамда продуцент суюқ ва қаттиқ озука мухитида ўстириш.	4	25
	2-иш. Бактериялардан спора ва кристал оксилларни ажратиб олиш ва микроскопда текшириш	4	30
4	Микроорганизмлардан оксил моддаларини ажратиб олиш усуллари 1-иш. Озука мухитидаги ва культурал суюқликдаги глюкоза миқдорини аниқлаш	4	35
	2-иш. Олинган тажриба натижаларини қайта ишлаш (ҳисоблаш)	2	40
5	Талабага эслатма		41
6	Фойдаланиш тавсия этиладиган адабиётлар рўйхати		42

Н.А.ХЎЖАМШУКУРОВ., В.З.НУРМУХАМЕДОВА



“БИОТЕХНОЛОГИЯ АСОСЛАРИ”

фанидан лаборатория ишларини бажариш учун

ЎҚУВ-УСЛУБИЙ ҚЎЛЛАНМА

Подписано к печати 10.09.2013. формат 60x84 1/16, усл. п.л. 3,0.
Тираж 100 экземпляров, заказ №023.
Опичетпано в типографии ТХТИ
Ташкент., ул. А.Навои, 32.

