

KARTOSHKA X VIRUSIGA SPETSIFIK ZARDOB TAYYORLASH VA ZARDOB TITRNI ANIQLASH

Bekmatova E'zoza Elmurod qizi

*Chirchiq davlat pedagogika universiteti biologiya kafedrası,
Magistrant elmuradovna.ezo@gmail.com*

Annotatsiya: *Kartoshka X virusiga tayyorlangan spetsifik zardobning titri qanchalik yuqori bo'lsa antigenlik xususiyati ham to'g'ri proporsional tarzda shuncha yuqori ko'rsatkichga ega bo'ladi.*

Kalit so'zlar: *Kartoska X virus, fitopotogen virus, immunizatsiya, immunogenlik, ikkiyoqlama immunodiffuziya(IID), antigen, spetsifik zardob, zardob titri, fitopatogen virus, dentifikatsiyalash, diagnostika qilish, izolyat.*

KIRISH

Hayvonlarga ishlab chiqilgan sxema asosida antigenni yuborish jarayoni immunizatsiya deyiladi. Antigen strukturasi, miqdoriga va hayvon turiga mos bir qancha immunizatsiya turlari bor. Shu sababli immun zardobni olish usuli empirik tarzda tanlanadi. Immunogen – bu begona molekula yoki antigenning bir turi bo'lib, u xo'jayin immunitet tizimini qo'zg'atib, immun javob bera oladi. Moddaning immunogenligi uning molekulyar massasiga bog'liq. Molekulyar massa qanchalik yuqori bo'lsa immunogenlik ham shunchalik yuqori bo'ladi. Immunizatsiyalangan hayvondan olingan qon zardobi spetsifik antizardob deyiladi. Ko'pgina immunologik tadqiqotlar olib borish uchun maxsus spetsifik zardob zarur bo'ladi. Bunday zardoblar umurtqali hayvonlar, jumladan: quyon, kalamush, sichqon va bir qator hayvonlar organizmiga turli AG lar kirganda, ularga qarshi maxsus himoya, «immun tizim» sifatida paydo bo'ladi Ularning immuniteti quyidagi ikki tizim orqali ta'minlanadi, «hujayraviy immunitet» va «gumoral immunitet». Immun tizimning bu ikkilik xarakteri organizmdagi ikkita bir-biriga o'xshash limfotsit hujayralar tomonidan ta'minlanadi. Tanib olingan begona agentlar «antigen» deb yuritiladi. AG ning AT ga birikadigan qismi antigen determinantlari deb yuritiladi. AT AG ni molekulyar komplementarlik printsipli asosida tanib oladi va birikadi, hamda bir nechta nokovalent va kovalent bog'lar hosil bo'lishiga sabab bo'ladi. Hayvonlarda immun tizim shakllanishiga olib keluvchi immunogenlar turli makromolekulalar, jumladan, begona oqsillar, nuklein kislotalar va uglevodlar bo'lishi mumkin. Molekulyar og'irligi 5000 dan kichik bo'lgan molekulalar immunogen bo'la olmaydi va ular «gaptelar» deb yuritiladi. Ular yirik molekulali oqsil-tashuvchilar bilan kovalent bog' orqali bog'langandagina immunogen bo'la oladi. Masalan, 2,4-dinitrofenil gruppasi maxsus zardob albumini singari tashuvchi-oqsil bilan birikkandagina immunogen bo'lishi mumkin. Umuman hayvonlarni sun'iy immunizatsiya qilish natijasida hosil bo'lgan zardob tarkibida paydo bo'lgan, AG ni taniy oladigan spetsifik oqsil, ya'ni AT lar

immunoglobulinlar (IgG) sinfiga mansub bo'lib, immunologiya usullarida keng qo'llaniladi. Ularning asosiy strukturasi to'rtta zanjirdan iborat bo'lgan polipeptid kompleksidir. Ular bir-biri bilan disulfid bog'lar orqali birikkan ikkita bir xil «engil» (kichik molekulyar og'irlikka ega bo'lgan) va «og'ir» (yirik molekulyar og'irlikka ega bo'lgan) zanjirlardan iborat. Zanjirlarning karboksil gruppasi (S-uchi) bilan tugagan uchi «konstanta» qismi deb yuritilib, bitta sinfga mansub AT larda o'xshash bo'ladi. Og'ir zanjirning karboksil gruppadan boshlab yarmigacha bo'lgan qismi Fc-uchastka deb yuritiladi. Og'ir va yengil zanjirlarining aminogruppa (N-uchi) bilan tugagan uchastkasining aminokislota ketma-ketligi turli spetsifiklikka ega bo'lgan AT larda farq qilib, og'ir va yengil zanjirlarda bu grupp bilan tugagan uchastkalar bir-biri bilan bog'lanadi va antigen bog'lovchi markazlarni hosil qiladi. Sut emizuvchilarni immunizatsiya qilish natijasida paydo bo'lgan maxsus zardob tarkibidagi immunoglobulinlar og'ir zanjiri aminokislotalar ketma-ketligiga qarab beshta sinfga, ya'ni IgM, IgG, IgA, IgD va IgE larga bo'linadi. Ko'pgina standart antigenlarga zarur bo'lgan antizardoblar, masalan, inson IgG sotuvda mavjud, ammo boshqa AG lar, jumladan, o'simlik viruslariga zarur bo'lgan antizardobni laboratoriya sharoitida tayyorlash zarur. Bunday antizardoblarga qo'yiladigan talab – spetsifiklik va tarkibida yetarlicha AT mavjud bo'lishidir. Bunday xususiyatga, ya'ni yuqori titrli AT ga ega bo'lgan antizardob olishda organizm immun sistemasining gumoral boshqaruvini hisobga olish zarur. Masalan, AG ning katta dozada yuborilishi AT ishlab chiqaruvchi supressor hujayralar paydo bo'lishini kamaytirishi yoki bu holat organizmdagi «immun xotira» fenomeni vazifasini bajarib yuqori titrli zardob ajralishiga sabab bo'lishi mumkin. AG ning organizmga kiritilishi AT hosil bo'lishidan tashqari organizmda unga qarshi paydo bo'ladigan immun reaksiyani namoyon qiluvchi limfotsitlar «xotira hujayrasi» ning paydo bo'lishiga sabab bo'ladi. Bu hujayralar butun organizm bo'ylab tarqaladi va limfosit ishlab chiqaruvchi organlar ishini kuchaytiradi. AG ning qayta yuborilishi, ya'ni «reimmunizatsiya» qilinishi birinchi immun reaksiyaga nisbatan organizmda sezilarli darajada AT ishlab chiqarilishini kuchaytiradi, paydo bo'lgan AT qon bo'ylab uzoq muddat aylanib yurib xizmat qiladi [2.9; 36-b]. Bir qator mualliflar ma'lumotiga qaraganda limfosit «hujayra xotirasi» ning paydo bo'lishi uzoq muddatli jarayon bo'lib, unda birinchi va ikkinchi AG yuborilishi orasidagi muddat qisqa bo'lmasligi zarur. Bizga ma'lumki, sichqonlarda birinchi va ikkinchi AG yuborilishi orasidagi optimal muddat 90 kunning tashkil etadi. Organizmda «immunologik xotira» ning paydo bo'lishi AG tabiatiga ham bog'liq. Bir qator mualliflar olib borgan tadqiqotlar asosida kartoshkani kasallantiruvchi X, Y va L-viruslar yuqori AG xususiyatiga, M, S-viruslar esa past AG xususiyatiga ega. AG yuborilganda quyonlarda va dengiz cho'chqasida 6 haftada, sichqon va kalamushlarda 4 haftada, tuban umurtqalilarda esa 3 haftadan so'ng organizmda AG ga qarshi immunitet shakllanadi. Organizmdagi bunday «gumoral immun» javobni esa ad'yuvantlar yordamida kuchaytirish mumkin. Ulardan eng ko'p ishlatiladigani to'liq Freynd ad'yuvanti va alyuminiy gidrooksiddir, ammo oxirgi vaqtlarda ad'yuvant

sifatida muramilpeptidlardan foydalinilmoqda. To'liq Freynd ad'yuvanti (TAF) tayyor holda sotuvda mavjud, uning tarkibiga mineral moy, emulgator va aktivligi yo'qotilgan tuberkulyoz bakteriyasi kiradi. TAF AG ning suyuq eritmasiga to stabil aralashma hosil bo'lguncha yaxshilab aralashtiriladi, chunki ad'yuvantning samarasi bu aralashmaga bog'liq. Ma'lumki ideal AT ni gibridoma hujayralaridan ham foydalanib olish mumkin. Bunda immunizatsiya qilingan hayvon limfotsitlari va rak hujayralaridan in vitro usulida gibrid olinadi, bu gibridoma hujayralaridan kerakli AT sintezlay oladigan hujayralar klonlanadi. Bunday antitanalar monoklonal AT bo'lib, bir xil spetsifiklikka ega ekanligi bilan poliklonal AT lardan farqlanadi. Ammo poliklonal AT lar esa turli spetsifiklikka ega bo'lib, ijobiy reaksiya berishi bilan ajralib turadi.

KXV ning toza preparati quyoning son mushaklari va kurak ostiga to'liq Freyn ad'yuvanti bilan qo'shib 5 marta yuborilib virusga spetsifik zardob tayyorlandi. Har bir yuborilganda esa 0,4 mg/ml dan virusni kunora 1 ml to'liq Freynd ad'yuvanti bilan qo'shib (1:1) yuborildi. Oxirgi in'ektsiyadan 14 kun o'tgandan so'ng 10 ml dan hafta davomida 2 marta qon olindi va qon 2 – 3 soat termostatga 37°S da saqlanib, so'ngra +4°S da 5 – 6 soat davomida sovutildi. Undan so'ng denaturatsiyalangan qonning shaklli elementlaridan zardob qismi ajratib olindi. Zardobda qolgan shaklli elementlar (eritrotsitlar, leykotsitlar, trombositlar) 2000 ayl./daq.da 5 daqiqa sentrifuga qilinib tozalandi [2.54; 153-b]. Tozalangan zardob titri TU va IID usullari yordamida aniqlandi. Titri aniqlangan zardob solingan idishga uning titri, aniqlash usuli yozilib, 1 – 2 tomchi xloroform solib muzlagan holda saqlab qo'yildi. Tayyorlangan zardob Uxterloni ishlab chiqqan Zilber va Abelevlar tomonidan mikromodifikatsiya qilingan IID usuli yordamida aniqlandi. Bunda 1% «Difco» agarini 0,1 M fosfat buferida (rN 8,0) eritilib, 24 ml 60-65°S sovutilgan suyuq agarni «shayton» (suv tarozi) bilan gorizontal joylashtirilgan, o'lchami 9×12 sm bo'lgan shisha plastinka ustiga quyildi. Agar-agar geli qotgandan so'ng, teshikchalar orasi 4 mm bo'lgan maxsus shtamplar yordamida yulduzchalar shaklidagi hamda to'g'ri chiziq bo'ylab chuqurchalar tayyorlandi va bu chuqurchalarga 80 mkl dan AG va zardob solingandan so'ng shisha plastinkalar maxsus moslamaga joylanib, tagiga 200 ml suv solingan eksikatora 48 soat davomida saqlandi. Bu muddat davomida AG va AT diffuziyasi ro'y berib, ularning spetsifik to'qnashishidan pretsipitatsiya liniyalari hosil bo'ldi. Har bir reaksiya natijalari aks etgan agar bo'lakchalari yog'sizlantirilgan buyum shishasi ustiga joylashtirilib, xromatografik yoki filtr qog'oz bilan yopilgan holatda 20°S da 15-20 soat davomida quritildi. So'ngra suv tagida namlanib filtr qog'ozdan tozalandi. Tozalangan agar bo'lakchalari tarkibida 1% li amidoshvarts, metanol, sirka kislotasi va suv (4:4:1) aralashmasidan iborat bo'lgan maxsus bo'yoqqa solinib 10 daqiqa davomida pretsipitatsiya chiziqlari bo'yaldi va undan so'ng preparat «yuvuvchi» suyuqlik (bo'yoqsiz metanol, sirka kislotasi va suv) bilan bir necha marta yuvildi. Quritilgandan so'ng reaksiya natijalari hisobga olindi. ID yordamida tadqiq qilinadigan o'simlik namunasi quyidagicha tayyorlandi: o'simlik bargi hovonchada ezilib shirasi chiqarildi va 1:1 nisbatda 0,02M li fosfat buferi (rN 7,5) bilan aralashtirildi, so'ng 8000

ayl./daq.da 10 daq. davomida sentrufuga qilingandan so'ng cho'kma usti suyuqligi olindi. ChUS AG sifatida ishlatildi [2.9; 27-b]. Zardob titri bu — antitela hali aniqlanmasdan oldin namunani qancha suyultirish mumkinligini ko'rsatuvchi o'lchovdir. Titrlar odatda 1:16, 1:32, 1:256 nisbatlarda ifodalanadi. Ya'ni zardobning 1 qismi 256 qism tuz eritmasi (suyulturuvchi). Tayyorlangan zardob IID(ikki yoqlama immunodiffuziya) usuli yordamida aniqlandi. Bunda 1% «Difco» agarini 0,1 M fosfat buferida (pH 8,0) eritilib, 24 ml 60-65°S sovutilgan suyuq agarni suv tarozi bilan gorizontol joylashtirilgan, o'lchami 9×12 sm bo'lgan shisha plastinka ustiga quyildi. Agar-agar geli qotgandan so'ng, teshikchalar orasi 4 mm bo'lgan maxsus shtamplar yordamida yulduzchalar shaklidagi hamda to'g'ri chiziq bo'ylab chuqurchalar tayyorlandi va bu chuqurchalarga 80 mkl dan AG va zardob solingandan so'ng shisha plastinkalar maxsus moslamaga joylanib, tagiga 200 ml suv solingan eksikatorida 48 soat davomida saqlandi. Bu muddat davomida AG va AT diffuziyasi ro'y berib, ularning spetsifik to'qnashishidan pretsipitatsiya liniyalari hosil bo'ldi. Har bir reaktsiya natijalari aks etgan agar bo'lakchalari yog'sizlantirilgan buyum shishasi ustiga joylashtirilib, xromatografik yoki filtr qog'oz bilan yopilgan holatda 20°S da 15-20 soat davomida quritildi. So'ngra suv tagida namlanib filtr qog'ozdan tozalandi. Tozalangan agar bo'lakchalari tarkibida 1% li amidoshvarts, metanol, sirka kislotasi va suv (4:4:1) aralashmasidan iborat bo'lgan maxsus bo'yoqqa solinib 10 daqiqa davomida pretsipitatsiya chiziqlari bo'yaldi va undan so'ng preparat «yuvuvchi» suyuqlik (bo'yoqsiz metanol, sirka kislotasi va suv) bilan bir necha marta yuvildi. Quritilgandan so'ng reaktsiya natijalari hisobga olindi. IID yordamida tadqiq qilinadigan o'simlik namunasi quyidagicha tayyorlandi: o'simlik bargi hovonchada ezilib shirasi chiqarildi va 1:1 nisbatda 0,02M li fosfat buferi (rN 7,5) bilan aralashtirildi, so'ng 8000 ayl./daq.da 10 daq. davomida sentrufuga qilingandan so'ng cho'kma usti suyuqligi olindi. Cho'kma usti suyuqligi AG sifatida ishlatildi.

ADABIYOTLAR RO'YXATI:

1. Амбросов А. Л. Вирусные болезни картофеля и методы выращивания здоровых клубней. Издательство «Урожай» Минск, 1964, -С, -10-15.
2. Вахобов А.Х. Умумий вирусологиядан амалий машғуотлар. I-ж, 2004, -31-35 б.
3. Крылов А.В. Некоторые вопросы эпидемиологии, диагностики и терапии мозаичных вирусов картофеля. Вирусологические исследования на дальнем Востоке, Владивосток, 1969, -С, -166-167.
4. Московец С.М., Грама Д.П., Жеребчук Л.К. Віруси і вірусні хвороби картоплі. Видавництво «Наукова думка» Киев, 1973, -С, -20-23.
5. Мирзаахмедов Б. Ўсимликнинг вирус касаллиги. Ўзбекистон “Фан” наш, - Т., 1972, -27 б.

6. Николаева О.В. Диагностика вирусов S и M картофеля методами ИФА и молекулярной гибридизации. Автореферат диссертации кан. биол. наук, -М., 1985, -21 С.

7. Nikitin N.A., Arkhipenko M.V., Novikov V.K., Radionova N.P., Atabekov J.G. The new highly pathogenic of Potato virus X, 10th International Plant virus Epidemiology symposium, 15-19 October, 2007, India, page 78.

8. M. Nema, ... M.R.N. Murthy, in Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry, 2019

Acheson, N. H. (2007). Introduction to virology. In Fundamentals of molecular virology. Hoboken, NJ: Wiley

9. Хусанов Т.С., Файзиев В.Б., Эшбоев Ф.Б., Вахобов А.Х. Влияние вируса мозаики люцерны на содержание хлорофилла и каротиноидов в люцерне. Вестник Прикаспия. №2(5). Май, 2014, -с. 3-6.

10. Fayziyev V.B., Jovliyeva D.T., E.E.To'rajonova "Kartoshka X virusining Datura stramonium o'simligi bargidagi xlorofill miqdoriga ta'sirini o'rganish". "Agrar sohani istiqbolli rivojlantirishda resusr tejovchi innovasion texnologiyalardan samarali foydalanish" mavzisudagi xalqaro ilmiy anjuman to'plami. 1-qism. Andijon-2019. 291-294 b.

11. To'rajonova E.E., Jovliyeva D.T., Tog'ayev S.A., "Kartoshka x-virusining Datura Stramonium o'simligi bargi karotinoid miqdoriga ta'sirini o'rganish". «2020 yil – Ilm-ma'rifat va raqamli iqtisodietni rivojlantirish yili» professor-o'qituvchi va e'sh olimlarning III - masofaviy ilmiy-amaliy konferensiyasi, 2020, Toshkent, 1046-1049b.

12. To'rajonova E.E., Jovliyeva D.T. "Картошка х-вирусининг Datura Stramonium ўсимлиги баргидаги каротиноид ва хлорофил миқдoriga таъсири". "Ўзбекистоннинг умидли ёшлари" мавзусидаги 1-сон республика илмий талаба ва магистрантлар онлайн конференцияси, 2020, Тошкент, 66-68б.

13. Hassani-Mehraban A., Dullemans A. M. and all. Alstroemeria yellow spot virus (AYSV): a new orthospovirus species within a growing Eurasian clade/ Archives of Virology (2019) 164:117–126 4 October 2018

14. Fuji S., K. Shinoda, M. Ikeda, H. Furuya, H. Naito, and F. Fukumoto. Complete nucleotide sequence of the new potexvirus "Alstroemeria virus X". June 28, 2005.

15. Fayziyev V. B., Jovliyeva D.T., Juraeva U., Shavkiev J. Eshboev F. Effects of PVXn-UZ 915 necrotic isolate of potato virus X on amount of pigments of Datura stramonium leaves/ Journal of Critical Reviews, 2020 Volume 7, Issue 9, pp. 400-403