

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ  
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ

---

ФАРҒОНА ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ

**FarDU.  
ILMIY  
XABARLAR-**

1995 йилдан нашр этилади  
Йилда 6 марта чиқади

6-2019

**НАУЧНЫЙ  
ВЕСТНИК.  
ФерГУ**

Издаётся с 1995 года  
Выходит 6 раз в год

**Аниқ ва табиий фанлар**

МАТЕМАТИКА

**А.Ўринов, Ш.Каримов**

Бессель оператори қатнашган итерацияланган кўп ўлчовли Клейна-Гордона-Фок тенгламаси учун Коши масаласи аналогини ечиш .....5

ФИЗИКА, ТЕХНИКА

**Р.Максудов, А.Джураев, Ш.Шухратов, И.Якубов**

Толали материаллар тозалагичининг қайишқоқ таянчларга ўрнатилган колосниклар тебранишларининг таҳлили .....13

**Ж.Улугмуратов, И.Исматуллаев, И.Якубов, З.Исламов, Х.Бегалиев, Т.Кодиров**

Туюқш экзотик чарми олишда тери хомашёсига дастлабки ишлов беришни тадқиқ қилиш .....20

КИМЁ

**Б.Махкамов, Д.Шахидова, Б.Орзикулов, Д.Гафурова**

Мис (II) ионларининг сорбцияси учун комплекс ҳосил қилувчи полимер материалларни олиш .....25

БИОЛОГИЯ, ҚИШЛОҚ ХЎЖАЛИГИ

**Ш.Хасанов, С.Сасмаков, Ж.Абдурахманов, О.Аширов, Ш.Азимова**

Ҳашарот хужайраларини паст ҳароратли муҳитда узоқ муддат сақлашнинг оптимал шароитларини танлаш .....29

**А.Ахунов**

Суғориш тарихи ва суғоришнинг ўзига хос омиллари .....32

**Ижтимоий-гуманитар фанлар**

ТАРИХ

**К.Тухтабеков**

Ўзбекистонда илм-фан тараққиётининг тарихий илдизлари .....36

**У.Жўраев**

Советлар даврида таълим тизимини мафкуралаштириш (1950-1980 йиллар) .....40

**Е. Гордеева**

Калтаминор маданияти мафкураси тўғрисидаги масалага доир .....43

**И.Раҳимов**

Тарихий ҳақиқат ва унинг жамият маънавий тараққиётига таъсири .....47

ФАЛСАФА, СИЁСАТ

**А.Ўтамуродов, Б.Турсунов**

Фуқаролик жамияти – тараққиётнинг юқори босқичи .....50

**Т.Алимардонов, А.Азимов**

Ўтиш даврининг классик модели .....54

**Ф.Мирзаева**

Ўрта Осиёда Нақшбандия-Мужаддиия тариқати ривожининг ўзига хос хусусиятлари .....58

**И.Тоиров**

Жаҳон тамаддуни шаклланишининг ўзига хос хусусиятлари .....61

АДАБИЁТШУНОСЛИК

**А.Акбаров**

Фирдавсий тақдири Хайнрих Хайне талқинида .....66

**Р.Тошниёзова**

Маърифат ва талқин: шоҳид образининг онтологик асослари .....70

**М.Хамидов**

Миркарим Осимнинг “Синган сетор” қиссасида Машраб образи .....75

**А.Қаюмов**

Уруш – миллий характер кушандаси .....77

**М.Эрназарова**

Л.Н.Толстой ижодини ўрганишнинг инновацион технологиялари .....81

ТИЛШУНОСЛИК

**Ш.Искандарова, М.Омонов**

Ҳозирги ўзбек тилида истеъмолдан чиққан “Бобурнома”даги изофий бирикмалар .....85

УДК: 577.112.083

## ҲАШАРОТ ҲУЖАЙРАЛАРИНИ ПАСТ ҲАРОРАТЛИ МУҲИТДА УЗОҚ МУДДАТ САҚЛАШНИНГ ОПТИМАЛ ШАРОИТЛАРИНИ ТАНЛАШ

### ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ КЛЕТОК НАСЕКОМЫХ В НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ СРЕДЕ

### SELECTION OF OPTIMAL CONDITIONS FOR LONG-TERM STORAGE OF INSECT CELLS IN LOWTEMPERATURE ENVIRONMENT

Ш.Хасанов, С.Сасмаков, Ж.Абдурахманов, О.Аширов, Ш.Азимова

#### Аннотация

Мақолада ҳашарот ҳужайралари культурасидан биотехнологик мақсадларда фойдаланиш йўллари ёритилган. Ҳужайра культуралари билан ишлаш соҳанинг муҳим объектларидан бири ҳисобланади. Ҳужайраларни ўстириш ва сақлаш уларни ҳимоялашнинг асосий усулларидан биридир. *Helicoverpa zea* (кўсак қурти) ва *Trichoplusia ni* (карам тунлами) ҳашаротлари ҳужайра линияларини лаборатория шароитида кўпайтириш ва уларни узоқ муддатли паст ҳароратли (криоконсервация) муҳитда сақлашнинг оптимал усулларини аниқлашдан иборат. Таҷрибалар Версенли буфер аралашмасидан фойдаланиш энг мақбул усул эканлиги исботланди. Бунда ҳужайраларнинг қайта тикланиши юқори унум билан амалга оширилди.

#### Аннотация

В статье освещена использованию культуры клеток насекомых в биотехнологических целях. Клеточная культура является одним из важнейших направлений отрасли. Выращивание и хранение клеток является одним из основных способов их защиты. *Helicoverpa zea* (хлопковая совка) и *Trichoplusia ni* (капустная совка) предназначены для репликации клеток насекомых в лабораторных условиях и определения оптимальных методов длительного хранения в низкотемпературных (криоконсервативных) средах. Эксперименты доказали, что использование буферной смеси Versailles - лучший способ. В то же время регенерацию клеток проводили с высокой продуктивностью.

#### Annotation

The article is devoted to the use of insect cell culture for biotechnological purposes. The cell culture is one of the most important areas of the industry. Growing and storing cells is one of the main ways to protect them. *Helicoverpa zea* (cloves) and *Trichoplusia ni* (cabbage juice) are designed to replicate insect cells in the laboratory and determine optimal long-term storage methods in low-temperature (cryoconservative) environments. Experiments have proven that using Versailles buffers is the best way. At the same time, cell regeneration was carried out with high productivity.

**Таянч сўз ва иборалар:** ҳашарот ҳужайралари культураси, *in vitro*, *Helicoverpa zea*, *Trichoplusia ni*, трипсин.

**Ключевые слова и выражения:** культура клеток насекомых, *in vitro*, *Helicoverpazea*, *Trichoplusiani*, трипсин.

**Keywords and expressions:** insect cell culture, *in vitro*, *Helicoverpazea*, *Trichoplusiani*, trypsin.

**Кириш.** Биотехнологиянинг жадал ривожланиб бориши натижасида ҳужайралар культураси устидаги амалиётлар катта аҳамият касб этиб, ҳозирги кунда улар қўлланиладиган соҳалар янада кенгайиб бормоқда. Ҳужайра культуралари билан ишлаш соҳанинг муҳим объектларидан бири ҳисобланади. Ҳужайраларни ўстириш ва сақлаш уларни ҳимоялашнинг асосий усулларидан биридир. Бугунги кунда илғор лабораторияларда ҳашарот ҳужайралари ва уларнинг бакуловирусларидан фойдаланган ҳолда рекомбинант оқсиллар олинмоқда [1-4]. Шунинг учун соҳанинг муҳимлиги ва долзарблигини инобатга олиб, биз ҳашарот ҳужайра линиялари устида бир қанча таҷриба олиб бордик.

Ушбу тадқиқотимизнинг асосий мақсади *Helicoverpa zea* (кўсак қурти) ва *Trichoplusia ni* (карам тунлами) ҳашаротлари ҳужайра линияларини лаборатория шароитида кўпайтириш ва уларни узоқ муддат паст ҳароратли (криоконсервация) муҳитда сақлаш [5-7] учун музлатиш жараёнида фойдаланиладиган бир қанча буфер таъсирини аниқлашдан иборат. Чунки ҳужайра линиялари юқоридаги зараркунанда ҳашаротларга нисбатан қарши курашиш

**Ш.Хасанов** – ЎзРФА С.Ю.Юнусов номидаги Ўсимлик моддалари кимёси институти, кичик илмий ходим.

**С.Сасмаков** – ЎзРФА С.Ю.Юнусов номидаги Ўсимлик моддалари кимёси институти, кимё фанлари номзоди, катта илмий ходим.

**Ж.Абдурахманов** – ЎзРФА С.Ю.Юнусов номидаги Ўсимлик моддалари кимёси институти, кичик илмий ходим.

**О.Аширов** – ЎзРФА С.Ю.Юнусов номидаги Ўсимлик моддалари кимёси институти, кичик илмий ходим.

**Ш.Азимова** – ЎзРФА С.Ю.Юнусов номидаги Ўсимлик моддалари кимёси институти, биология фанлари доктори, профессор.

имконини берадиган турли хил инсектицид фаолликка эга бирикмаларни қисқа вақт оралиғида, хавфсиз, иқтисодий томондан кам харажат сарфлаган ҳолда ва биологик тоза боксларда текшириб бериш имконини беради. Бундан ташқари, ҳужайраларни музлатиб қўйишдан мақсад, уларни контаминация бўлиб қолишдан ёки ҳужайра линияларининг бошқа кутилмаган ҳодисалар сабабли ифлосланишини олдини олиш, шу билан бирга ҳужайра линияларини муайян муддатларгача сақлашда муҳим роль ўйнайди.

#### Тадқиқот усуллари

Тажрибалар учун SIGMA-ALDRICH (Мерск, Германия), New England Biolabs (США), Gibco (США), HiMedia Laboratories Pvt.Ltd (Индия) фирмаларининг фермент ва реагентларидан фойдаланилди.

*Helicoverpa zea* ва *Trichoplusia ni* ҳужайра линиялари Ўсимлик моддалари кимёси институти молекуляр генетика лабораторияси ҳашарот ҳужайралари коллекциясидан олинган.

*Ҳужайраларни музлатиш учун керакли озуқалар:*

- 75 % ли Grace's
- 15 % ли бузоқ эмбрионининг зардоби (ФБС)
- 10 % ли тоза глицерин

*Тирик ҳужайралар сонини аниқлаш:*

ҳашарот ҳужайраларини музлатишда уларнинг сони ҳам катта аҳамиятга эга. Ҳужайралар сони  $1 \times 10^7$ -  $2 \times 10^7$  оралиғида бўлиши керак;

буюм ойнасига бир томчи ҳужайрали озуқа муҳити билан бирга яна бир томчи Трипан кўк эритмасидан томизилиб аралаштирилади. Бунда Трипан кўк ўлик ҳужайраларни бўйяйди, бу эса, ўз навбатида, бизга тирик ҳужайралар сонини аниқлаш имконини беради;

буюм ойнаси ойна қоплагич билан ёпилади ва микроскопга жойлаштирилади.

10 х катталаштириш  $1 \text{ см}^2$  жойдаги тирик ҳужайралар сонини аниқлаш учун етарли ҳисобланади;

танланган квадратдаги ҳужайралар сони гепатоцитометрда ҳисоблаб чиқилади ва қуйидаги формула орқали уларнинг умумий сони аниқланади;

1 мл ҳажмдаги тирик ҳужайралар сони қ 1  $\text{мм}^2$  даги ҳужайралар сонини х суюлтириш х  $10^4$  га кўпайтирилганига тенг бўлади.

*Ҳужайра линияларини кўчириб олиш ва музлатиш тартиби:*

Ҳашарот ҳужайраларини музлатиш учун уларни ўсиб турган флаконларидан кўчириб

олиш керак бўлади, бунда Версен буферидан фойдаландик.

Буфер таркиби:

- ЭДТА
- NaCl, KCl
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Бунинг учун термостатдан оптимал ўсиш ҳарорати  $26^\circ \text{C}$  да турган флаконлар чиқарилади ва музлатгичда  $4^\circ \text{C}$  да 20 мин давомида ушлаб турилади.

кейин идиш фойдаланилган озуқа муҳитдан тозаланади;

ҳужайранинг юза қисми 3-5 мл Версен буфери билан тезда ювиб ташланади;

флакондан Версен олиб ташланади;

5 мл тоза озуқа муҳит қўшилади ва ҳужайралар флакон деворидан зудлик билан пипетка ёрдамида ювиб туширилади;

янги стерил 15 мл ли пробиркага солиб, 5 мин 1000 гртда центрифуга қилинади;

пробиркадаги суюқ суспензия тўкиб ташланади, устига 750 мкл Grace's, 150 мкл FBS ва 100 мкл глицерин солиниб, махсус 1,5 мл ли криопробиркага олинади;

30 мин,  $4^\circ \text{C}$  да музлатгичда ушланади;

кейинги 24 соат азотли камерада азот буғларида  $1^\circ \text{C}$  да ёки музлатгичда;

криопробиркалар криокамерага  $-70^\circ \text{C}$ ,  $-80^\circ \text{C}$  туширилади.

Криокамерада пробиркалар 9-12 ой сақланади, зарурат бўлганда ундан ҳам кўпроқ сақланиши мумкин.

#### Натижалар ва муҳокама

Биз ўрганаётган ҳашарот ҳужайралари табиатда кенг тарқалган бўлиб, қишлоқ хўжалиги ва турли хил ўсимликлар олами учун жиддий хавф туғдирувчи зараркунандалар ҳисобланади.

*Helicoverpa zea* [9] – одатда маккажўхори қурти деб аталадиган бир тур. Бу турнинг кўплаб ўсимликларни зарарлагани учун унга турлича номлар беришган. Бизнинг ҳудудларда асосан ғўза ўсимлиги билан озиклангани учун уни ғўза қурти, дейишади. Биринчи марта 1850 – йилларда Шимолий ва Жанубий Америка ҳудудларида аниқланган, жуда ҳам зарарли қурт, йил фаслига қараб 400 км радиусли ҳудудни эгаллаб олиши мумкин. Марказий Осиё ва Ўзбекистон ҳудудларида 2002 – йилларда ғўза ўсимлигидан топилган. Ҳашаротлар жуда кўплаб қишлоқ хўжалиги ўсимликларига зарар етказади; маккажўхори, ғўза, помидор, қарам, исмалоқ, артишок, бақлажон, дуккакпилар, итузумдошлар, қовоқдошлар, тоқдошлар, кўп йиллик сабзавотлар шулар жумласига киради.

## БИОЛОГИЯ, ҚИШЛОҚ ХЎЖАЛИГИ

*Trichoplusia ni* [10]. Биринчи марта 1868 йилда Шимолий Америка ва Колумбия ҳудудларидан топилган, 160 тадан ортиқ ўсимликнинг зараркунандаси ҳисобланади. Хўжайин ўсимлик карам бўлганлиги учун карам тунлами, дейилади. Баҳорда ҳашаротлар ғумбакдан чиқадиган жойига қараб ўсимлик танлайди. Карамдошлар, сабзавотлар, брокколи, ўрмон ўсимликлари ва Жанубий Америкадаги чой плантацияларига катта зарар етказди.

**Криоконсервация** – грекчадан, совуқда сақлаш, маъносини беради. Бу усул биологик функцияларни тиклаш қобилиятига эга тирик биологик объектларни паст ҳароратда сақлашга ёрдам беради. Бугунги кунда тиббиёт, қишлоқ хўжалиги ва илмий тажрибаларда хўжайра культураларини, тўқималари (қон, сперматозоид)ни музлатишнинг бир қанча усули ишлаб чиқилган. Қоида тариқасида музлатиш  $-196^{\circ}\text{C}$  ҳароратгача олиб борилади [11]. Музлатиш учун суяқ азотдан ёки кам ҳолларда юқори ҳароратли ( $-180^{\circ}\text{C}$  дан  $-130^{\circ}\text{C}$  гача) электрлаштирилган музлатгичлардан фойдаланилади. Одатда бу усулда хўжайралар ўзининг 90% асл ҳолатини сақлаб қолган ҳолда қайта тикланади. Шунинг учун ҳам хўжайраларни музлатиб қўйиш кенг аҳамият касб этади.

Биринчи навбатда тажрибаларимизни илмий адабиётларга таянган ҳолда, бакуловирус ҳашарот хўжайра линияларини музлатишда криоконсервациялаш усулидан фойдаландик, бунда флаконда моно қатлам ҳосил қилиб, ўсувчи хўжайралар турли хил буферли аралашмалар ёрдамида кўчириб олинди. Натижалар шуни кўрсатдики, Версенли буфер аралашмаси (ЭДТА, NaCl, KCl  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), илгари қўлланилган Трипсин буферига (Tris-HCl,  $\text{CaCl}_2$ ) нисбатан афзаллиги юқори даражада эканлиги аниқланди. Версенли буфер ёрдамида ажратиб олинган хўжайралар 6 – 12 ой узоқ муддатли музлашдан сўнг 94 – 96 % ўзининг асл ҳолатини тиклади. Трипсинли буферда бу кўрсаткич 78 – 80 % ни ташкил этди.

**Хулоса**

Тажрибаларимиз давомида эришилган натижалардан кўринадики, лаборатория шароитида ҳашарот хўжайралари *Trichoplusiyani* ва *Helicoverpa*ларни узоқ муддатли криокамераларда сақлаш учун хўжайра культуралари ўсувчи пластик идишлардан хўжайраларни кўчириб олишда Версенли буфер аралашмасидан фойдаланиш энг мақбул усул эканлиги исботланди. Бунда хўжайраларнинг қайта тикланиши юқори унум билан амалга оширилди.

**Адабиётлар:**

- 1) Kato T, Kajikawa M, Maenaka K, Park EY. Silkworm expression system as a platform technology in life science // *Appl Microbiol Biotechnol*. 2010, 85: 459-470. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19830419>
- 2) Murakami K, Uchiyama A, Kokuho T, Mori Y, Sentsui H, et al. Production of biologically active recombinant bovine interferon-g by two different baculovirus gene expression system using insect cells and silkworm larvae // *Cytokine* 2001, 13: 18-24. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11145838>
- 3) Ikonomou L, Schneider YJ, Agathos SN. Insect cell culture for industrial production of recombinant proteins// *Appl Microbiol Biotechnol*. 2003, 62: 1-20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12733003>
- 4) Kajikawa M, Sasaki-Tabata K, Fukuhara H, Horiuchi M, Okabe Y, et al. Silkworm Baculovirus Expression System for Molecular Medicine // *J Biotechnol Biomaterial*. 2012, S9:005. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-952X.S9-005>.
- 5) Drugmand JC, Schneider YJ, Agathos SN (2011) Insect cells as factories for biomanufacturing. *Biotechnol Adv*. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.09.014
- 6) Hink WF, Thomsen DR, Davidson DJ, Meyer AL, Castellino FJ (1991) Expression of three recombinant proteins using baculovirus vectors in 23 insect cell lines. *Biotechnol Prog* 7:9–14. doi:10.1021/bp00007a002
- 7) Lucie Vyletova • La'Verne P. Rennalls • Kirstin J. L. Wood • Valerie M. Good Long-term, large scale cryopreservation of insect cells at  $-80^{\circ}\text{C}$  *Cytotechnology* (2016) 68:303–311 DOI 10.1007/s10616-014-9781-5
- 8) "beet armyworm (*Spodoptera exigua*)". Plantwise Technical Factsheet. Retrieved 3 August 2016
- 9) Hardwick, David F. (1965). "The corn earworm complex". *Memoirs of the Entomological Society of Canada*. **97** (S40): 5–247 Retrieved 29 Jun 2019. . [doi:10.4039/entm9740fv](http://doi:10.4039/entm9740fv).
- 10) Shorey, H. H.; Andres, L. A.; Hale, R. L. (1962-09-01). "The Biology of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). I. Life History and Behavior". *Annals of the Entomological Society of America*. **55** (5): 591–597. [doi:10.1093/aesa/55.5.591](http://doi:10.1093/aesa/55.5.591)
- 11) . Grace's insect cell culture medium, supplemented instructions for use. Doc ID: 179405 Rev. No.: 2. ©2016 Expression Systems LLC.

(Тақризчи: Ф.Юлдашев – қишлоқ хўжалиги фанлари доктори, профессор).