TUT IPAK QURTI BOMBYX MORI L. GEN TEXNOLOGIYALARI

Iroda Ahmedova
ChDPU, Biologiya yo‘nalishi IV bosqich talabasi

Murodxo‘ja Alisher o‘g‘li Abdiqodirov
ChDPU Genetika va evolyutsion biolgiya kafedrasi dots.v.b.
m.abdiqodirov@cspu.uz

ANNOTATSIYA

Ushbu maqolada tut ipak qurti Bombyx Mori L. da hozirda foydalanish mumkin bo‘lgan texnologiyalar hamda ularning gen funksiyasini o‘rganishda qo‘llanilishi haqida ma’lumotlar keltirilgan. Shuningdek, *Bombyx Mori* da genetik texnologiyalarni ishlab chiqish va qo‘llash bilan bog‘liq muammolar, yechimlar va kelajak istiqbollari muhokama qilinadi.

Kalit so‘zlar: transpozonga asoslangan texnologiyalar, genomni tahrirlash texnologiyasi, gen manipulyatsiyasi, hasharot, tut ipak qurti.

АННОТАЦИЯ

В этой статье представлена информация о технологиях, которые в настоящее время можно использовать в тутовом шелкопряде *Bombyx Mori* L., а также, об их применении при изучении функции генов. Также обсуждаются проблемы, решения и перспективы на будущее, связанные с разработкой и применением генетических технологий в Bombyx mori.

Ключевые слова: технологии на основе транспозонов, технологии редактирования генома, манипуляции с генами, насекомое, тутовый шелкопряд.

KIRISH

Bombyx Mori L. xonakilashtirilgan hasharot bo‘lib, u 5000 yildan ortiq vaqt mobaynida odamlar bilan chambarchas bog‘langan [1]. U ipak tolasi ishlab chiqarishda foydalanilgan va foylalanilmoqda; qadimgi Ipak yo‘li bo‘yidagi mamlakatlarning iqtisodiy rivojlanishiga, Sharq va G‘arb o‘rtasidagi madaniy almashinuvlarga katta hissa qo‘shdi [2]. B.Mori butun dunyoda ipakchilik uchun hal qiluvchi ahamiyatga ega bo‘lsa-da, B.Mori genomining ketma-ketligi va genomni manipulyatsiya qilish imkonini beruvchi texnologiyalarning rivojlanishi bilan yanada muhim ahamiyat kasb etib kelmoqda. B.Mori lichinkalari, shuningdek, tegishli genetik modifikatsiyadan so‘ng qimmatli oqsillar, terapevtik moddalar va ipak asosidagi biomateriallarni

ishlab chiqarishi mumkin bo‘lgan “bioreaktorlar” sifatida foydalanish uchun ulkan salohiyatga ega [3, 4, 5].

Ipak qurtining samarali transgen texnologiyasi ipak qurti genomini funksional tadqiq etishni rag‘batlantirish va ipakchilik tarmog‘idagi asosiy muammolarni hal etishning kaliti hisoblanadi. Ipak qurtida yaratilgan transgenetik texnologiyalar asosida biz bir qancha omillarning transformatsiya samaradorligiga ta’sirini o‘rganishimiz mumkin [31]. Natijalarga ko‘ra, *Bombyx Mori* L. tuxumi ichiga promotorni mikroinyeksiya qilish tuxum qo‘yishdan keyin 2-3 soat davomida transformatsiya samaradorligini oshiradi, tuxumlarning inkubatsiya darajasi va transformatsiya darajasi mos ravishda 62,7% va 34,8% ni tashkil etadi. Flouressent skrining uchun eng qulay vaqt embrionning 5-8- kunlari hisoblanadi. Natijalar boshqa tangachaqanotli hasharotlarning transgenezi uchun modelni yaratadi va ipak qurtining funksional genomikasini o‘rganishga hamda jarayonda ishtirok etgan molekulyar bioreaktorlarning rivojlanishiga hissa qo‘shadi [32,33].

ADABIYOTLAR TAHLILI VA METODOLOGIYA

Transpozon vositachiligidagi transgenezga asoslangan genetik texnologiyalar va so‘nggi yillarda ishlab chiqilgan genomni tahrirlash texnologiyalari ko‘plab organizmlarni genetik manipulyatsiya qilish uchun afzal bo‘lgan usullarga aylandi. Tut ipak qurti *Bombyx Mori* L. ipak ishlab chiqarishda qo‘llanilishi va hasharotlar, jumladan, ko‘plab qishloq xo‘jaligi zararkunandalarining biologiyasi haqidagi tushunchalarimizni sezilarli darajada kengaytirgan qimmmatbaho hasharot bo‘lgani uchun katta iqtisodiy ahamiyatga ega [6,7]. So‘nggi 10 yil ichida B.Morida genetik texnologiyalar, jumladan, transgenezga tayanuvchi transpozonga asoslangan texnologiyalar va oqsil yoki RNK tomonidan boshqariladigan modifikatsiyaga asoslangan genomni tahrirlash texnologiyalari rivojlanishida katta yutuqlarga erishildi [13,14,15]. Ushbu texnologiyalarning muvaffaqiyatli ishlab chiqarilishi va qo‘llanilishi nafaqat B.Mori va undan ipak ishlab chiqarish tizimi sifatida foydalanishni yaxshiroq tushunishga yordam berdi, balki namunaviy bo‘lmagan hasharotlarda o‘xshash texnologiyalarni ishlab chiqishga hissa qo‘shgan qimmatli tajribalarni ham taqdim etdi [10,11,12].

O‘simliklar, umurtqali hayvonlar va hasharotlar uchun qo‘llaniladigan genetik texnologiyalar 1980-yillarning boshlarida, genomga transgenni kiritish uchun oddiy vositalardan boshlangan. Shundan beri genetik texnologiyalar soni va takomillashuvida barqaror o‘sish kuzatildi va shu sababli ham bugungi kunda bizda organizm genomining DNK ketma-ketligini aniq tahrirlash imkoniyati mavjud [8,9,19]. Ushbu texnologiyalar nafaqat organizmlar biologiyasiga oid fundamental savollarni hal qilish,

balki organizmlarni genetik manipulyatsiya qilish (ekinlar hosildorligini oshirish, odam kasalliklarini davolash usullarini ishlab chiqish, qishloq xo‘jaligi zararkunandalariga qarshi kurashish) imkonini berdi [26,27].

Bugungi kunga qadar hasharotlarning 40 dan ortiq turlari transpozonga asoslangan gen vektorlari yordamida genetik jihatdan o‘zgartirilgan. Gen vektori sifatida faqat *Trichoplusia* genomidan ajratilgan piggyBacc vektori B.Mori da samarali ishlaydi. Gen funksiyasini tahlil qilish uchun har bir genomga transgenning bitta nusxasini kiritish afzalroq va ko‘p hollarda *piggyBacc*ning faqat bitta nusxasi B.Mori genomiga integratsiyalashgani ko‘rsatilgan va *piggyBacc* ko‘chiriladigan elementi *Bombyx Mori* L. transgen ipak qurti generatsiyasida muvaffaqiyatli qo‘llanildi [16, 17, 18]. Ushbu tadqiqotlarda turli hasharotlar, jumladan B.Mori genlarini ifodalash mumkin bo‘lgan bog‘lanish joylarini o‘z ichiga olgan sun’iy promotor nazorati ostida transgen vektorda skrining belgisi sifatida qabul qilingan. Tadqiqotlar davomida 700 ta unumdor hasharotlar orasidan 111 ta mustaqil transgen liniyalar olingan bo‘lib, transgen liniyalarning ko‘pchiligida ikki yoki undan ortiq xromosoma qo‘shilishi kuzatilgan. *PiggyBacc* vositachiligida transpozitsiya kiritish joylarida xarakterli TTAA takrorlash ketma-ketligini aniqlash orqali tasdiqlandi. Genetik markerning *Bombyx Mori* L.ga barqaror va yuqori samarali uzatilishi ushbu vektor-marker tizimining sanoat ishlab chiqarishi va nazariy tadqiqotlar uchun ishlashini tasdiqlaydi [28, 29, 30].

Bombyx Mori L. da α-amilaza genini klonlash va ekspression tahlil. α-amilaza kraxmalni gidrolizlash uchun keng tarqalgan ferment hisoblanadi. Ipak qurtida α-amilaza ovqat hazm qilish suyuqligida ham, gemolimfada ham uchraydi. α-amilazani kodlovchi gen 9 ta ekzondan iborat bo‘lib, 7981 n.b. uzunlikka ega. Mazkur gen 500 ta aminokislota qoldig‘ini kodlaydi va olinga oqsil boshqa hasharotlar α-amilazalariga 54-81%, sutemizuvchilar fermentlariga 50% dan ortiq o‘ziga xoslikni ko‘rsatadi [38].

Qishloq xo‘jaligi va aholi salomatligida muhim ahamiyatga ega bo‘lgan hasharotlar uchun transgen asosida jinsiy ko‘payish usullari ishlab chiqilmoqda. Ipakchilikda uzoq vaqtlardan beri faqat erkaklarni boqishga intilib kelinmoqda, chunki erkaklar yaxshi jismoniy tayyorgarlik, kam oziq-ovqat iste’moli va yuqori ipak hosildorligi kabi iqtisodiy ustun xususiyatlarga ega. Tadqiqotlar orqali *Bombyx Mori* L. uchun transgen asosida jinsiy ko‘payish tizimi yaratilgan. Bunda maxsus konstruksiya ishlab chiqilgan bo‘lib, bu jarayon jinsga xos bo‘lgan alternativ birlashma bilan tartibga solinadigan va faqat urg‘ochi ipak qurtlarda tetratsiklin-repressiv transaktivatorning yuqori darajada ifodalanishi bilan amalga oshadi. Natijada transgen hayvonlar embrional rivojlanish davrida yoki erta lichinkalik bosqichlarida urg‘ochilarning halok

bo‘lishi hamda faqatgina erkaklarning pilla hosil qilishi amalga oshadi. Ushbu transgenga asoslangan urg‘ochilarga xos o‘ldiradigan tizim nafaqat ipakchilikda keng qo‘llanilishi, balki tangachaqanotlilar zararkunandalariga qarshi kurashda ham katta imkoniyatlarga ega [39, 40, 41, 42].

Hasharotlar genom muhandisligi gen funksional tahlili va zararkunandalarga qarshi kurashning yangi texnologiyalarni uzoq muddatli rivojlantirish uchun juda muhimdir. Yaqinda ishlab chiqilgan muhandislik nukleazalari (ZFN) va transkripsiya faollashtiruvchisiga o‘xshash effektor nukleazalar (TALENs) genomning aniq modifikatsiyasini osonlashtirishga qodir bo‘lgan fermentlar hisoblanadi. Biroq, har bir maqsadli sayt uchun alohida nukleazalar hosil qilish vaqt va mehnatni talab qiladi, ayniqsa ZFN uchun uzoq vaqt va mehnat sarflash kerak. Yaqinda aniqlangan CRISPR/Cas tizimi ko‘plab bakterial turlarda topilgan adaptiv immunitet mexanizmida ishtirok etadi, ZFN va TALENlarga oson va samarali alternativ hisoblanadi. Ma’lum bo‘lgan 4 ta CRISPR/Cas tizimlaridan 2-turdagi bakterial CRISPR/Cas9 tizimi genom muhandisligi uchun eng mos keluvchi tizim sanaladi [40,41].

B.Mori da zamonaviy genetik texnologiyalarni qo‘llash natijasida genlarning funksional tahlili sezilarli darajada yaxshilanadi. Bu esa ipak oqsili sintezi, immunitet va kasalliklarga chidamlilik, rivojlanish va metamorfoz, shuningdek, jinsni aniqlashni tushunishga yordam beradi. Ipak qurti biologiyasini o‘rganishdagi muvaffaqiyatlar boshqa hasharotlar ustida tajriba o‘tkazishga asos bo‘ladi [18, 19, 20, 21]. B.Mori ni genetik jihatdan manipulyatsiya qilishning kengaytirilgan imkoniyatlari yangi yoki yaxshilangan fenotipga ega hasharotlarni yaratish imkonini beradi, bu esa ipakchilikning tijorat muvaffaqiyatini oshiradi. Genomni o‘zgartirish texnologiyalari ipakning hosildorligi va sifati oshgan, virusga chidamli va boshqa maxsus xususiyatlarga ega yangi B.Mori navlarini yaratish imkonini yaratadi. Bundan tashqari, B.Mori ning ipak bezlari ko‘p miqdorda qimmatli oqsillarni ishlab chiqaradi [22, 23, 24, 25].

Mahalliy olimlar ham mazkur sohada o’zlarining jonbozliklarini ko’rsatib kelmoqdalar. Xususan, Ipakchilik ilmiy tadqiqod institutida ham eksperimental mutagenez usuli yordamida yaratilgan noyob qo’sh embrional noallel letallar bo‘yicha muvozanatda bo‘lgan noyob zotlar usstida takomillashtirish ishlari ham olib borilmoqda [34, 35, 36, 37].

XULOSA

Xulosa qilib aytganda, ko‘p yillik sayi-harakatlardan so‘ng, ipak qurti *Bombyx Mori* L. eng ilg‘or genetik texnologiyalar mavjud bo‘lgan hasharotlar tizimlaridan biriga aylandi. Ushbu

texnologiyalarni qo‘llash nafaqat B.Mori genlarini funksional tahlil qilishni osonlashtiribgina qolmay, balki boshqa model bo‘lmagan hasharotlarda ham shunga o‘xshash texnologiyalarni ishlab chiqish va qo‘llashga yordam berdi.

REFERENCES

1.Barber E.W. 1991. Prehistoric textiles: the development of cloth in the Neolithic and Bronze Ages with special reference to the Aegean. Princeton, NJ: Princeton University Press.

2. Bentley J.H. 1993. Old world encounters: cross-cultural contacts and exchanges in pre-modern times. New York, NY: Oxford University Press.

3. Willis J.H., Wilkins A.S., Goldsmith M.R. 1995. A brief history of Lepidoptera as model systems. In Molecular model systems in the Lepidoptera. pp. 1–20. New York, NY: Cambridge University Press.

4. Xia Q. 2004. A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*). Science 306, 1937–1940.

5. The International Silkworm Genome Consortium 2008. The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm *Bombyx mori*. Insect Biochem. Mol. Biol. 38, 1036–1045.

6. Fraser M.J., Jr 2012. Insect transgenesis: current applications and future prospects. Annu. Rev. Entomol. 57, 267–289.

7. O'Brochta D.A., George K., Xu H. 2014. Transposons for insect transformation. In Transgenic insects: techniques and applications (ed. Benedict MQ.), pp. 1–17. Boston, MA: CABI Press.

8. Cary L.C., Goebel M., Corsaro B.G., Wang H.G., Rosen E., Fraser M.J. 1989. Transposon mutagenesis of baculoviruses: analysis of Trichoplusia transposon IFP2 insertions within the FP-locus of nuclear polyhedrosis viruses. Virology 172, 156–169.

9. Tamura T. 2000. Germline transformation of the silkworm Bombyx mori L. using a piggyBac transposon-derived vector. Nat. Biotechnol. 18, 81–84.

10. Tomita M. 2003. Transgenic silkworms produce recombinant human type III procollagen in cocoons. Nat. Biotechnol. 21, 52–56.

11. Dai H., Xu G., Thomas J.L., Wang Z., Jiang R., Fei J. 2005. Efficient and stable generation of transgenic silkworm, Bombyx mori with the lepidopteran derived transposon piggyBac (In Chinese). Chin. Sci. Bull. 50, 1617–1621.

12. Imamura M., Nakahara Y., Kanda T., Tamura T., Taniai K. 2006. A transgenic silkworm expressing the immune-inducible cecropin B-GFP reporter gene. Insect Biochem. Mol. Biol. 36, 429–434.

13. Ma S., Xu H., Duan J., Zhao A., Zhang M., Xia Q. 2009. Effect of several factors on the transformation efficiency in the transgenic technology of silkworm, *Bombyx Mori* (In Chinese). Acta Entomol. Sin. 52, 595–603.
14. Wang H.G., Fraser M.J. 1993. TTAA serves as the target site for TFP3 lepidopteran transposon insertions in both nuclear polyhedrosis virus and Trichoplusia ni genomes. Insect Mol. Biol. 1, 109–116.
15. Xu H.F., Xia Q.Y., Liu C., Cheng T.C., Zhao P., Duan J., Zha X.F., Liu S.P. 2006. Identification and characterization of piggyBac-like elements in the genome of domesticated silkworm, Bombyx mori. Mol. Genet. Genomics 276, 31–40.
16. Daimon T., Mitsuhiro M., Katsuma S., Abe H., Mita K., Shimada T. 2010. Recent transposition of yabusame, a novel piggyBac-like transposable element in the genome of the silkworm, Bombyx mori. Genome 53, 585–593.
17. Jiang L., Sun Q., Liu W., Guo H., Peng Z., Dang Y., Huang C., Zhao P., Xia Q. 2014. Postintegration stability of the silkworm piggyBac transposon. Insect Biochem. Mol. Biol. 50, 18–23.
18. Subbaiah E.V. 2013. Engineering silkworms for resistance to baculovirus through multigene RNA interference. Genetics 193, 63–75.
19. Long D.P., Zhao A.C., Chen X.J., Zhang Y., Lu W.J., Guo Q., Handler A.M., Xiang Z.H. 2012. FLP recombinase-mediated site-specific recombination in silkworm, Bombyx mori. PLoS ONE 7, e40150
20. Long D., Zhao A., Xu L., Lu W., Guo Q., Zhang Y., Xiang Z.H. 2013. In vivo site-specific integration of transgene in silkworm via PhiC31 integrase-mediated cassette exchange. Insect Biochem. Mol. Biol. 43, 997–1008.
21. Duan J., Xu H., Ma S., Guo H., Wang F., Zhao P., Xia Q. 2013. Cre-mediated targeted gene activation in the middle silk glands of transgenic silkworms (Bombyx mori). Transgenic Res. 22, 607–619.
22. Uhlírová M., Asahina M., Riddiford L.M., Jindra M. 2002. Heat-inducible transgenic expression in the silkmoth Bombyx mori. Dev. Genes Evol. 212, 145–151.
23. Sun G.C., Hirose S., Ueda H. 1994. Intermittent expression of BmFTZ-F1, a member of the nuclear hormone receptor superfamily during development of the silkworm *Bombyx Mori*. Dev. Biol. 162, 426–437.
24. Fischer J.A., Giniger E., Maniatis T., Ptashne M. 1988. GAL4 activates transcription in Drosophila. Nature 332, 853–856.
25. Brand A.H., Perrimon N. 1993. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. Development 118, 401–415.
26. Imamura M., Nakai J., Inoue S., Quan G.X., Kanda T., Tamura T. 2003. Targeted gene expression using the GAL4/UAS system in the silkworm *Bombyx mori*. Genetics 165, 1329–1340.

27. Kobayashi I. 2011. An efficient binary system for gene expression in the silkworm, *Bombyx mori*, using GAL4 variants. Arch. Insect Biochem. Physiol. 76, 195–210.
28. Sakudoh T. Carotenoid silk coloration is controlled by a carotenoid-binding protein, a product of the Yellow blood gene. Proc. Natl Acad. Sci. USA 104, 8941–8946.
29. Yamagata T., Sakurai T., Uchino K., Sezutsu H., Tamura T., Kanzaki R. 2008. GFP labeling of neurosecretory cells with the GAL4/UAS system in the silkmoth brain enables selective intracellular staining of neurons. Zool. Sci. 25, 509–516.
30. Tatematsu K., Kobayashi I., Uchino K., Sezutsu H., Iizuka T., Yonemura N., Tamura T. 2010. Construction of a binary transgenic gene expression system for recombinant protein production in the middle silk gland of the silkworm *Bombyx Mori*. Transgenic Res. 19, 473–487.
31. Ngernyuang N., Kobayashi I., Promboon A., Ratanapo S., Tamura T., Ngernsiri L. 2011. Cloning and expression analysis of the *Bombyx mori* α-amylase gene (Amy) from the indigenous Thai silkworm strain, Nanglai. J. Insect Sci. 11, 38.
32. Sakurai T. 2011. A single sex pheromone receptor determines chemical response specificity of sexual behavior in the silkmoth *Bombyx mori*. PLoS Genet. 7.
33. Zhang H., Cao G.L., Zhang X.R., Wang X.J., Xue R.Y., Gong C.L. 2012. Effects of BmKIT3R gene transfer on pupal development of *Bombyx mori* Linnaeus using a Gal4/UAS binary transgenic system. J. Agric. Food Chem. 60, 3173–3179.
34. ABDIKODIROV, M. (2023). COCOON PRODUCTIVITY AND YIELD IN LATEST-STAGE IMPROVEMENT OF Z LETHAL GENES BALANCED BREED OF MULBERRY SILKWORM. EPRA International Journal of Research and Development (IJRD), 8(12), 57-59.
35. Nasirillaev, B., Rajabov, N., Abdukadirov, M., & Fozilova, K. (2023). History and development prospects of silk farming in Uzbekistan. In E3S Web of Conferences (Vol. 376). EDP Sciences.
36. Абдикодиров, М. А., & Насириллаев, Б. У. (2022). ПРИЗНАКИ РЕПРОДУКЦИИ МУЖСКИХ ОСОБЕЙ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА В НОВЫХ ГИБРИДНЫХ КОМБИНАЦИЯХ F1. Academic research in educational sciences, 3(1), 113-120.
37. Nasirillaev, B. U., & Abdikodirov, M. A. The Heritage of Egg Color During the Development of a New Genetic Method of Improvement of Mulberry Silkworm Bombyx Mori L. Balanced Breed with Embryonic Z-Lethalities.