

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ СОҒЛИҚНИ САҚЛАШ ВАЗИРЛИГИ
ТИББИЙ ТАЪЛИМНИ РИВОЖЛАНТИРИШ МАРКАЗИ
ТОШКЕНТ ПЕДИАТРИЯ ТИББИЁТ ИНСТИТУТИ

“Тасдиқлайман”

Ўз.Р.С.С.В Фан ва ўқув юртлари
бош - бошқармаси бошлиғи

_____ **проф. Ш.Э. Атаханов**

“ ” 2006

БИОЛОГИК КИМЁ ФАНИДАН АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАР УЧУН
МЕТОДИК ҚЎЛЛАНМА
(Тиббиёт институтлари II -курс талабалари учун)

ТОШКЕНТ – 2006 й

Тузувчилар: ТошПТИ биологик кимё каф. мудири, академик **Саатов Т.С.**

ТошПТИ биологик кимё каф. доц. **Султанходжаев У.Л.**

ТошПТИ биологик кимё каф. доц. **Зиямутдинова З.К.**

ТошПТИ биологик кимё каф. доц. **Каримова Ш.Ф.**

ТошПТИ биологик кимё каф. асс. **Акбарходжаева Х.Н.**

ТошПТИ биологик кимё каф. асс. **Хайбуллина З.Р.**

Такризчилар: 1. Тошкент Тиббиёт академияси биокимё кафедраси мудири,
профессор **Сабирова Р.М.**

2. Ўзбекистон фанлар академияси Биокимё илмий-текшириш
институти профессор **Бабаев Т.А.**

3. ТошПТИ институти фармакология кафедраси мудири,
профессор **Абдусаматов А.А.**

Услубий қўлланма ТошПТИ МУК йиғилишида муҳокама қилинди (баённома № 1, «20» сентябр 2006 й.) ва ТошПТИ Илмий Кенгашида тасдиқланди (баённома № 2, «27» сентябр 2006 й.).

Амалий машғулот № 1

Мавзу: Оксилларнинг тузилиши, функциялари ва хусусиятлари.

4. Мақсад.

- Талабаларга биокимё фанининг вазифалари ҳақида тушунча бериш;
- Оксилларнинг структура тузилишини ва уларнинг организмдаги функцияларини кўриб ўтиш;
- Талабаларни оксиллар таркибига кирувчи аминокислоталарга бўлган сифат реакцияларни аниқлаш, ҳамда биурет тажрибаси асосида биологик муҳитларда оксилларнинг мавжудлигини сифатли аниқлашни ўргатиш.

5. Вазифалар.

Дарсдан сўнг талабалар билиши керак:

- Бу фан ёрдамида кўриб ўтиладиган асосий саволларни, ҳамда биокимё вазифаларини;
- Одам организмдаги оксил функцияларни. Қоннинг оксил таркибини ва бошқа орган ва тўқималарнинг оксилларини функцияларини;
- Аминокислоталарнинг классификациясини, ҳамда уларнинг ёзилиш формуласини;
- Оксилнинг бирламчи структурасини, уларни стабиллаштирувчи пептид боғини асослаб беришни;
- Оксилларнинг бирламчи структураси, пептид боғ ва унинг хусусияти, оксилнинг бирламчи структурасининг ўзгариш натижасида келиб чиқадиган касалликни номлашни ва тушунтира олишни;
- Биурет тажрибаси ёрдамида биологик муҳитларда оксилни сифатли аниқлашни;
- Тирозин ва цистеинга сифат реакцияларини бажара олишни.

6. Машғулотни назарий қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

1) 1-топшириқ. Биокимё фани ва вазифалари.

- a) Биокимё фани, бу фан ёрдамида кўриладиган асосий саволлар;
- b) «Минимал ҳужайра» ҳақида тушунча, тирик материянинг хусусияти;
- c) Биокимё бўлими.

2) 2-топшириқ. Оксил функциялари. Тўқималарнинг оксил таркиби.

- a) Органик бирикма синфлари сингари оксил характеристикаси;
- b) Оксил функциялари;
- c) Қон зардоб, жигар, мушакларнинг оксил таркиби.

3) 3-топшириқ. Оксилларнинг аминокислота таркиби.

- a) Аминокислоталарнинг классификацияси;
- b) Аминокислоталарнинг хусусияти.

4) 4-топшириқ. Оксилларнинг бирламчи структураси.

- a) Оксилларнинг бирламчи структурасини стабиллаштирувчи боғлар;
- b) Пептид боғининг хусусияти.
- 5) 5-топшириқ. Оксилларнинг бирламчи структурасининг боғи ва функцияси.
- a) Оксилларнинг бирламчи структурасининг ажойиблиги;
- b) Оксилларнинг бирламчи структурасининг ўзгариши натижасида келиб чиқадиган касалликлар.
- III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, интерактив ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм.
1. Лаборатория иши: Тирозинга реакция (Милон реакцияси).
2. Лаборатория иши: Цистеинга реакция (Фоли реакцияси).
3. Лаборатория иши: Оксилларга биурет реакцияси.
- VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Тирозинга реакция (Миллон реакцияси)».

Миллон реакцияси фақат тирозин ва фенилаланинга хос реакция ҳисобланади.

Реакциянинг асоси. Оксил эритмасига Миллон реактиви (симобнинг нитрат кислотадаги эритмаси) қўшилганда тирозин ва фенилаланиннинг бензол ҳалқаси – динитротирозиннинг симобли тузи ҳосил бўлгани сабабли у қизил рангга киради.

Иш тартиби. 5 томчи оксил эритмасига 1-2 томчи Миллон реактиви солиниб, эҳтиётлик билан қиздирилади. Қизил ранг ҳосил бўлади.

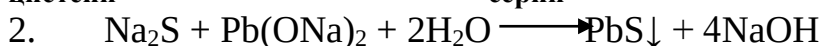
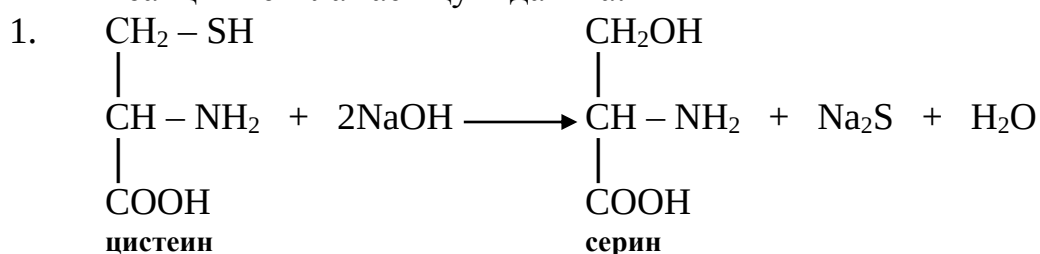
«Фоли реакцияси»

Цистеин ва цистин аминокислоталарида олтингугурт жуда кучсиз боғланган бўлиб, уларни ишқор ёрдамида ажратиб олиш мумкин.

Реакциянинг асосланиши. Ишқорий гидролиз натижасида ажралган олтингугурт кўрғошин билан бирикиб, қора рангли кўрғошин сульфид тузини ҳосил қилади. Бу туз эритмада чўкма ҳолатда бўлади.

Ушбу реакция цистеин алмашинуви бузилганда аниқланади.

Реакция тенгламаси қуйидагича:



Иш тартиби. 5 томчи оксил эритмасига шунча микдорда Фоли реактиви солиб қиздирилади ва 1-2 дақиқага қолдирилади. Шунда қорамтир кўрғошин сульфид чўкмаси ҳосил бўлади.

«Оксилни биурет реакцияси».

Реакциянинг асосланиши. Оксил эритмаси ишқорий шароитда мис (II) сульфат эритмаси қўшилганда кўкимтир-бинафша рангга киради. Ушбу ранг мис ионларининг пептид боғлар билан ҳосил қилган комплекс бирикмасига боғлиқ. Бу реакцияни икки ва ундан ортиқ пептид боғ тутган пептидлар, оксиллар беради. Ушбу реакция барча оксилларга тегишли.

Иш тартиби. 5 томчи оксил эритмасига 2 томчи натрий гидроксиднинг 10% ли эритмаси ва мис сульфатнинг 1% эритмасидан бир томчи солиб, аралаштирилади. Эритма кўк-бинафша тусга киради.

Амалий машғулот № 2.

Мавзу: Оксилларни вазифаларини уларни конфигурациясига боғлиқлиги.

4. Мақсад:

- Талабаларга оксилларни структураси ҳақида тушунча бериш;
- Оксилни вазифаларини структурасига боғлиқлигини кўрсатиш;
- Талабаларга оксилни миқдорини биурет усулида аниқлашни ўргатиш.

5. Вазифалар.

Машғулотдан сўнг талабалар билиши лозим:

- Оксилни иккиламчи, учламчи ва тўртламчи структураларини;
- Иккиламчи, учламчи ва тўртламчи структураларни стабиллайдиган боғларни;
- Глобуляр ва фибриляр оксиллар тушунчасини;
- Изофункционал оксилларни тушунчасини мисолларини, уларни ўхшаш ва ўхшамаслик томонларини;
- «Лиганд» тушунчасини, оксил молекуласидаги конфигурацион ва кооператив ўзгаришларини;
- Оксилларни синфланишини;
- Қон оксилларини сифат ва миқдорий таркибини ва унинг патологик ҳолатларда ўзгаришини.

6. Машғулотни назарий қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

1) 1-топшириқ. Оксилларни бирламчи, иккиламчи ва учламчи структуралари.

- а) Ҳар бир структурани тушунчасини бериш;
- б) Водород боғларни тушунчасини бериш;
- с) Оксил молекуласини актив маркази ҳақидаги тушунча.

2) 2-топшириқ. Актив марказ конформациясини тузилишида ҳар хил структураларини аҳамияти.

3) 3-топшириқ. Оксилларни лигандлар билан боғлиқлиги.

III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.

IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.

- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Оксил миқдорини биурет усули билан аниқлаш.
- VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Оксил миқдорини биурет усули билан аниқлаш».

Усулнинг асоси. Барча оксиллар ишқорий муҳитда мис (II) сульфат эритмаси билан бинафша рангли бирикма ҳосил қилади. Эритманинг ранги оксил миқдorigа тўғри пропорционал. Бўялган эритма колориметрланади, топилган эритма зичлигига кўра аввалдан тайёрланган ўлчов эгри чизигидан оксил миқдори топилади.

Иш тартиби. Тўртта куруқ пробирка олиб унинг биринчисига 0,5% ли, иккинчисига 1,0% ли, учинчисига 1,5% ли оксил эритмаси солинади. Ушбу эритмалар ўлчов эгри чизигини тайёрлаш учун керак бўлади. Тўртинчи пробиркага миқдори номаълум бўлган оксил эритмасидан солинади. Мақсад ана шу пробиркадаги оксил миқдорини аниқлаш ҳисобланади.

2. Ҳар қайси пробиркага 4 мл дан биурет реактиви қуйилади, яхшилаб аралаштирилгач, хона ҳароратида 20 дақиқага қолдирилади. Шунда эритма аста-секин рангга киради. Рангли эритманинг зичлиги яшил нур фильтри қаршисида (ФЭК нинг 540 нм тўлқин узунлигида) 1 см қалинликдаги кюветада ўлчанади. Назорат сифатида биурет реактивидан фойдаланилади.

3. Биринчи учта пробиркадан олинган натижа бўйича ўлчов эгри чизиги чизилади. Ордината ўқига оптик зичлик натижалари, абсцисса ўқига эса концентрацияси маълум бўлган доимий эритма натижалари келтирилади.

Миқдори номаълум бўлган оксил эритмаси зичлигини билган ҳолда ўлчов эгри чизигидан фойдаланиб, изланган оксил миқдори топилади.

Амалий машғулот № 3.

Мавзу: Оксилларнинг физик-кимёвий таркибини ўрганиш.

4. Мақсад: Оксил моддаси ҳақида талабаларга маълумот бериш, фракциялаш усули ва клиник-диагностик аҳамиятини ўргатиш.

5. Вазифалар.

Машғулотдан кейин талабалар билиши керак:

- Оксиллар таркибини;
- Оксил молекуласи формуласи ва молекуляр массасини;
- Оксилларни эриши нима билан боғлиқ эканлигини;
- Оксил ренативацияси ва денатурациясини;
- Хроматография усули ва турларини.

6. Машғулотни назарий қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
- 1) 1-топшириқ. Оксилнинг молекуляр массаси.
 - а) Оксилларнинг молекуляр массасини аниқлаш усули, ҳар бир усулни таҳлил қилиш.
 - 2) 2-топшириқ. Оксил молекуласининг тузилиши.
 - а) Глобуляр оксиллар;
 - б) Фибриляр оксиллар.
 - 3) 3-топшириқ. Оксилнинг эриши ва чўкмага тушиши.
 - а) Оксилларни физик-кимёвий таркиби;
 - б) Оксилларнинг эриши;
 - с) Чўкмага тушиши.
 - 4) 4-топшириқ. Оксилларнинг коллоид хусусияти.
 - 5) 5-топшириқ. Гельфилтрация, диализ, чўктириш.
 - 6) 6-топшириқ. Оксиллар денатурацияси ва ренативацияси.
 - 7) 7-топшириқ. Хроматография ва унинг турлари.
- III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Оксилларни иссиқлик таъсирида чўктириш.
- VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Оксилларни иссиқлик таъсирида чўктириш».

Иш тартиби. 5 та пробиркага 0,5 мл дан тухум оксили эритмаси олинади. Биринчи пробирка қиздирилади ва эритманинг хиралашиши кузатилади.

Иккинчи пробиркадаги тухум оксили эритмасига секинлик билан 1 томчи 1% ли сирка кислота эритмаси солинади, қиздирилади ва аввалида хиралашиш кузатилади. Қиздириш давомида оқ пахтасимон чўкма кузатилади. Демак оксил зарядини йўқотади ва изоэлектрик ҳолатда бўлади.

Учинчи пробиркадаги тухум оксили эритмасига 1-2 томчи 10% ли сирка кислотаси эритмаси солинади ва қиздирилади, чўкма ҳосил бўлмайди. Чунки оксил қисмлари қайта зарядланади. Мусбат заряд ҳосил бўлади.

Тўртинчи пробиркадаги тухум оксили эритмасига 1-2 томчи 10% ли сирка кислота эритмаси солинади. 1 томчи NaCl эритмаси солинади ва қиздирилади. Чўкма ҳосил бўлади, чунки зарядлар нейтралланиши кузатилади.

Бешинчи пробиркадаги тухум оксили эритмасига 1 томчи 10% NaOH эритмаси солинади ва қиздирилади. Чўкма ҳосил бўлмайди, чунки оксил қисмлардаги заряд мусбатланиши кучаяди.

Амалий машғулот № 4.

Мавзу: Нуклеин кислоталарнинг тузилиши.

4. Мақсад: Талабаларга нуклеин кислоталарнинг тузилиши ва биологик функциялари ҳақида маълумот бериш.

5. Вазифалар.

Машғулотдан сўнг талабалар қуйидагиларни билиши керак:

- Нуклеин кислоталарнинг тузилишини, нуклеотид таркибини, хужайра ДНК ва РНК турларининг функцияларини, рибосома ва нуклеосомаларнинг тузилишини.
- ДНК ва РНКнинг бирламчи, иккиламчи ва учламчи структурасини, хроматин ва хромосоманинг фарқини.
- Чаргафф қоидасини ёзишни билиши керак.
- Нуклеин кислоталарнинг денатурацияси ва ренативацияси ҳақида маълумот, ДНК-ДНК ва ДНК-РНК-гибридизацияси.
- Нуклеопротеин сифатини аниқлашни билиш керак.

6. Машғулотни назарий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топшириқ. Нуклеин кислоталар: ДНК, РНК. Асосий нуклеотидлар.
 - а) Нуклеотид ва нуклеозидларнинг тузилиши;
 - б) РНК билан ДНК нинг фарқи, ДНК ва РНК хужайраларининг тузилиши.
 - 2) 2-топшириқ Нуклеин кислоталарнинг бирламчи, иккиламчи ва учламчи структуралари.
 - а) Нуклеин кислоталарининг бирламчи структураси, бошқарилиши;
 - б) Нуклеин кислоталарининг иккиламчи структураси, Чаргафф қоидаси, т-РНК нинг тузилиши.
 - 3) 3-топшириқ. Нуклеин кислоталарнинг специфик коэффиценти.
 - 4) 4-топшириқ. Нуклеин кислоталарнинг денатурацияси ва ренативацияси.
 - 5) 5-топшириқ. Хроматин, рибосома ва нуклеосомаларнинг тузилиши ва оқсил синтезида уларнинг роли.
- III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Нуклеин кислоталарининг гидролизланиши.
- VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

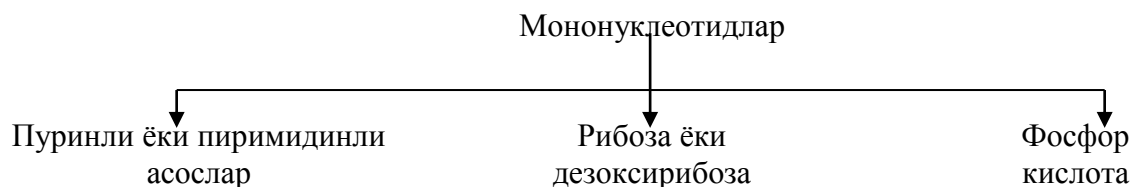
Лаборатория иши.

«Нуклеопротеинларнинг таркибий қисмига сифат реакция».

Нуклеопротеинлар қисман гидролизлаганда, улар оқсил ва нуклеин кислоталарга парчаланади. Тўлиқ гидролиз натижасида нуклеин кислоталар қуйидаги таркибий қисмларга парчаланади:

Нуклеин кислотлар
(полинуклеотидлар)





Иш тартиби. 1. Гидролиз. Кенг пробиркага 0,5 г ҳамиртуруш (ачитки), устига 4 мл 10% ли сульфат кислота солинади ва пробкали қайтар холодильник (музлатгич) билан бирлаштирилади (25-30 см узунликдаги шиша най). Мослама асбест турли иситгичда ёки кум ҳаммомида бир соат давомида қайнатилади.

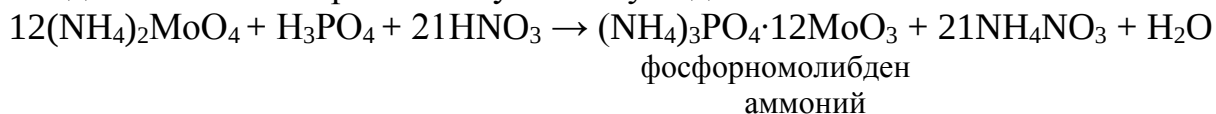
Бир оздан сўнг гидролиз тўхтатилади, суюқлик совитилади ва филтр коғоз орқали ўтказилади. Филтрдан ўтган суюқлик таркибидаги гидролиз маҳсулотлари сифат реакциялар ёрдамида аниқланади.

2. Полипептидларни аниқлаш учун биурет реакцияси, 5 томчи гидролизатга 10 томчи 10% ли натрий гидроксид эритмаси ва бир томчи мис сульфат эритмаси солинади. Суюқлик бинафша тусга киради.

3. Пурин асосларига кумуш синамаси, 10 томчи гидролизат бир томчи концентранган аммиак эритмаси билан нейтралланади. Сўнг унга 5 томчи 1% ли кумуш нитрат эритмаси солинади. 3-5 дақиқа ўтгач пурин асосларининг (аденин ва гуанин) кумушли бирикмалари ипир-ипир чўкмага тушади. Чўкма қорамтир тусга киради.

4. Рибоза ва дезоксирибозага Тромер реакцияси. 5 томчи гидролизатга 10 томчи 30% ли натрий гидроксид ва 1-3 томчи 7% ли мис сульфат эритмаси солинади. Эритмалар аралаштирилиб, унинг юқори қисми қиздирилади. Эритма қайнаши билан қизил рангли мис (I) оксид ҳосил бўлади. Бу чўкма рибозанинг оксидланиши ва мис (II) гидроксиднинг қайтарилиши оқибатида мис (I) оксид ҳосил бўлишига боғлиқ.

5. Фосфор кислотага молибден реакцияси. 5 томчи гидролизатга 20 томчи молибден реактивидан солиб, бир неча дақиқа аланга юзасида қайнатилади. Гидролизат таркибида фосфор кислота бўлгани учун эритма оч фосфор-молибден комплекс бирикмаси чўкмага тушади.



Амалий машғулот № 5.

Мавзу: Нуклеин кислоталар биосинтези.

4. Мақсад: Талабаларда репликация ва транскрипция механизмлари тўғрисида тушунчани ҳосил қилиш.

5. Вазифалар.

Дарс ўтказилгандан сўнг талабалар билишлари лозим:

➤ Генетик ахборотни амалга ошириш йўллари;

- ДНК биогенезнинг босқичлари, ферментлари ва жараёни кечиш шароитларини;
- РНК ва ДНК полимераза субстратларини билиш ва «Оказаки фрагментлари» билан танишиш;
- Репликация ҳатоларини тўғрилашни;
- Транскриптазани тузилиши билан танишиш.

6. Машғулоти назарий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топшириқ. ДНК ва ирсият, ДНК биосинтези (репликация – ирсий ахборотни наслдан-наслга ўтказилиш йўли).
 - a) Репликация кечиши учун керакли шароитлар;
 - b) Репликация турлари;
 - c) Репликацияда қатнашувчи ферментлар;
 - d) Репликация этаплари;
 - e) Мутация турлари;
 - f) ДНК репарацияси.
 - 2) 2-топшириқ. Репликация, хужайрани бўлиниш цикллари.
 - 3) 3-топшириқ. РНК биосинтези (транскрипция).
 - a) Транскрипция ферментлари;
 - b) Транскрипция босқичлари;
 - c) иРНК ва процессинг.
- III. Ўқитувчининг машғулоти саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Талокдан дезоксирибонуклеопротеинни ажратиш.
- VI. Талабаларни машғулотидаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулоти мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Талокдан дезоксирибонуклеопротеинни ажратиш».

Дезоксирибонуклеопротеинни талок тўқимасидан ажратиш олиш унинг ишқорий ва тузли эритмаларда яхши эриб, сувда эритмаслиги ва шунинг учун ишқорий эритмаларни нейтраллаганда ёки тузли эритмаларни суялтирилганда ДНП чўкмага тушишига боғлиқ. Дезоксирибонуклеопротен (ДНП) таркибидаги ДНК ни дезоксирибозани очадиган сифат реакция орқали топиш мумкин. Бунинг учун ДНП кислота дифениламин реактиви билан қиздирилади. Натижада ДНП гидролизланиб, дезоксирибоза ажралади ва дифенил реактиви билан кўк ранг ҳосил қилади. ДНП таркибидаги оксил эса биурет реакцияси ёрдамида очилади.

Иш тартиби. ДНПни ажратиш. Талокдан 0,5 г олиб 100 мг шиша кукуни қўшилади ва 15 мл 5%ли натрий хлорид эритмасидан оҳисталик билан чинни ҳовончага солиб ишқаланади. Бир хил ҳолатга келтирилган аралашма дока филтрдан ўтказилади. Сўнгра стаканга шиша таёкчаси билан аста-секин

аралаштирилган ҳолда 80-90 мл филтрдан ўтказилган суюқлик солинади. Сувда эримайдиган ДНП чўкмага тушади, унинг чўкма-ипчалари шиша таёкчага ўралади ва тоза пробиркага шиша таёкча орқали аста ўтказилади.

ДНП ипчалари 1-2 мл 0,4% ли натрий гидроксид эритмаси билан эритилади (ДНП ипчаларини тўлиқ эришини кузатинг).

2. ДНК ни аниқлаш. 5-10 томчи ДНП эритмасига икки марта кўп ҳажмда дифениламин реактиви солинади ва пробирка 5-10 дақиқага қайнаб турган сув ھаммомига қўйилади. Эритма секин-аста кўк рангга киради, чунки дифениламин дезоксирибоза билан реакцияга киришади.

ДНП таркибидаги оксилни аниқлаш. 5-10 томчи ДНП эритмасига 10 томчи 10% ли натрий гидроксид эритмаси ва 1 томчи 1% ли мис сульфат эритмаси солиб биурет реакцияси ўтказилади. Кўкимтир-бинафша ранг ҳосил бўлиши оксил борлигини исботлайди.

Амалий машғулот № 6.

Мавзу: Оксил биосинтези.

4. Мақсад: Талабаларда ирсий ахборотни амалга ошириш механизмлари тўғрисида тушунча ҳосил қилиш. Оксил биосинтезини бошқичлари ва уларни бошқарилишини ўрганиш.

5. Вазифалар:

Дарс ўтказилгандан сўнг талабалар билишлари керак:

- Генетик код ва унинг таркибини;
- Оксил биосинтезининг бошқичларини;
- м-РНК, т-РНК ва р-РНК ларни тузилишини ва вазифаларини;
- Оксилнинг посттрансляцион ўзгаришларини;
- Оксил синтезини ингибиторларини таъсир этиш механизмларини билиш;

6. Машғулотни назарий қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

1) 1-топшириқ. Генетик код ва унинг таркиби.

- а) Маъноли ва маъносиз кодонлар;
- б) Генетик код хусусиятлари.

2) 2-топшириқ. Оксил биосинтезининг бошқичлари.

- а) т-РНК нинг адапторлик вазифалари;
- б) Аминокислоталар активланиши;
- с) Инициация, инициатор комплекси;
- д) Элонгация ва трансляцияни терминацияси.

3) 3-топшириқ. Матрицали РНК нинг вазифалари.

4) 4-топшириқ. Оксилнинг посттрансляцион модификациялари.

5) 5-топшириқ. Оксил биосинтезининг бошқарилиши, оксил биосинтезини ингибитори.

- a) Оперон структураси;
- b) Репрессия турлари;
- c) Матрицали биосинтезни ингибиторлари.
- III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: ДНК миқдорини калориметрик йўл билан аниқлаш.
- VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«ДНК миқдорини калориметрик усули билан аниқлаш».

Усулнинг асоси. ДНК таркибидаги дезоксирибоза дифениламин билан кўк ранг ҳосил қилади. Рангнинг зичлиги ДНК миқдорига тўғри пропорционалликдан, фотоэлектрориметрдан фойдаланилади.

Иш тартиби. Битта текширув ва битта назорат пробиркаси тайёрланади. Биринчисига ДНК нинг сувли эритмасидан 1 мл, иккинчисига 1 мл дистилланган сув солинади. Ҳар иккала пробиркага 2 мл дан дифениламин реактиви солиб, 10 дақиқа сув җаммомида ушлаб турилади. Бир оздан сўнг пробиркалардаги суюқликлар совитилади ва ФЭК нинг қизил нур фильтрида назорат суюқлиги қаршисида кўрилади. Текширилувчи ДНК нинг оптик зичлигини топгач, ўлчов эгри чизиғидан унинг миқдори аниқланади.

Ўлчов эгри чизиғини тайёрлаш. 3 та пробиркага концентрацияси турлича бўлган (50, 100, 200 мкг/мл) ДНК эритмасидан 1 мл ва дифениламин реактивидан 2 мл солиб, 10 дақиқа қайнаб турган сув җаммомида қиздирилади. Эритма совитилгач юқоридагидек фотоэлектрориметрланади. Топилган оптик зичлик ва ДНК миқдоридан ўлчов эгри чизиғи тузилади. Абсцисса ўқига ДНК миқдори, ордината ўқига оптик зичликлар келтирилади.

Амалий машғулот № 7.

Мавзу: Ферментлар. Ферментларнинг хоссаларини ва биологик катализаторлик хусусиятларини ўрганиш.

4. Мақсад:

- Талабалар билан ферментларнинг тузилиши ва функцияси ҳақида мулоҳаза қилиш;
- Ферментатив реакцияларнинг тезлигини ҳароратга, pH га, субстрат ва фермент миқдорига боғлиқлигини кўрсатиш;
- Кимёвий реакциялар ёрдамида ферментларнинг таркибини ва бу кимёвий реакцияларнинг кечишини ўзига хос томонларини ўрганиш;
- Қўйилган амалий ишларнинг клиник диагностик аҳамиятини кўриб чиқиб билимларни мустаҳкамлаш.

5. Вазифалар.

Машғулотдан сўнг талабалар билиши керак:

- Ферментларнинг кимёвий тузилишини;
- Ферментларнинг физик-кимёвий хоссаларини;
- Ферментларнинг классификациясини;
- Ферментларнинг ўлчаш бирликларини;
- Кимёвий анализ асосида диагноз қўйишни.

6. Машғулотни назарий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топширик. Ферментларнинг кимёвий табиати.
 - а) Кофермент, кофактор. Простетик гуруҳларни кўриб чиқиш;
 - б) Актив марказнинг тузилиши.
 - 2) 2-топширик. Ферментларнинг умумий хоссалари, спецификлиги ва унинг аҳамияти.
 - а) Амфотерлик;
 - б) Электрофоретик ҳаракатчанлик;
 - с) Лигандга тушунча бериш;
 - д) Субстратга комплементарлик.
 - 3) 3-топширик. Ферментатив реакцияларнинг тезлигини ҳароратга ва pH га боғлиқлиги.
 - а) Субстрат миқдorigа боғлиқлиги;
 - б) Фермент миқдorigа боғлиқлиги;
 - с) Фермент активлигини аниқлаш қоидалари
 - 4) 4-топширик. Ферментларнинг классификацияси ва номенклатураси.
 - а) Оксиредуктазалар;
 - б) Трансферазалар;
 - с) Гидролазалар;
 - д) Лиазалар;
 - е) Изомеразалар;
 - ф) Лигазалар.
 - 5) 5-топширик. Ферментларнинг активлигининг ўлчаш бирликлари.
 - а) Халқаро бирлик, катал ва солиштирма бирликларга тушунча бериш.
- III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Сўлак амилазаси активлигига ҳароратнинг таъсири.
- VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

1. «Амилаза активлигига ҳароратнинг таъсири».

Ўрганиш материали: сўлак амилазаси (бошни эгиб, оғизни очиб, пастки лабга пробирка тутиб сўлакни солинади).

Реактивлар: I₂; 1% ли KI эритмаси; крахмал; 1%-ли эритма; дистилланган сув.

Керакли анжомлар: пипеткалар; пробиркалар; термостат (40°C); сувли ҳаммом; музли ҳаммом; буюм ойначалари.

Крахмални амилаза билан парчаланишини I_2 билан ўтказиладиган реакцияда кузатиш мумкин.

Ишнинг бориши. 1. Тўртта пробиркага 0,5 мл дан крахмал эритмаси солинади. Яна 4 та пробиркаларга эса 0,5 мл суюлтирилган (1:10) сўлак солинади.

2. 2 та пробиркани (биттаси фермент билан, иккинчиси крахмал билан) олиб музли ҳаммомга солинади. Яна иккита пробиркани хона ҳароратида қолдирилади. Кейин яна иккита пробиркани термостатга (40°C) қўйилади, охириги иккита пробиркани – қайнаб турган сувли ҳаммомга қўйилади.

3. 10 минутдан сўнг ҳар иккитадан турган пробиркаларнинг ичидагилари қўшилади, аралаштирилади ва яна олдинги шароитларда 10 минутга қолдирилади.

4. Учинчи пробиркадан 3 томчи суюқлик олинади ва I_2 билан реакция ўтказилади. Агар эритма кўк рангга кирса, эритмалар яна 10 минутга қолдирилади. Кейин эса I_2 билан реакция қайтадан ўтказилади. Кейин ҳамма пробиркаларга 2 томчидан йод эритмаси қўшилади ва ранг пайдо бўлиши кузатилади.

2. «Сўлак амилазаси активлигига рН нинг таъсири».

Ўрганиш материали: сўлак амилазаси (бошни эгиб, оғизни очиб, пастки лабга пробирка тутиб сўлакни солинади).

Реактивлар: I_2 ; 1% ли KI эритмаси; крахмал; 1%-ли эритма; дистилланган сув, 1/15 моль/л ҳар хил рН кўрсаткичли (5,4-8,0) фосфат буфер эритмаси.

Керакли анжомлар: пипеткалар; пробиркалар; термостат (40°C); сувли ҳаммом; музли ҳаммом; буюм ойначалари.

Сўлак амилазаси таъсирининг оптимал рН ни аниқлаш учун, сўлак амилазаси билан крахмалнинг муҳитнинг ҳар хил рН кўрсаткичларида таъсирлашувини кўриб чиқиш керак. Крахмалнинг парчаланиш даражасини вақт ўтиши билан унинг йод эритмаси билан кечадиган реакциясига қараб билиш мумкин. Оптимал рН - кўрсаткичида крахмалнинг тўла парчаланиши кузатилади (кўк ранг йўқолиб кетади). рН нинг ишқорий ёки кислотали тарафга ўзгаришда крахмалнинг парчаланиши фақат декстринларгача (бинафша ёки қизил-алвон ранг) боради ёки крахмал умуман парчаланмайди (кўк ранг).

Ишни бориши. 1. Ишни бошлашдан олдин амилаза эритмаси тайёрланади ва унинг активлиги текширилади. Бунинг учун 1 мл крахмал эритмаси билан 0.5 мл суюлтирилган (1:10) сўлак аралаштирилади. Ҳар 2 минутда бу аралашмадан томчидан олиб, буюм ойначасидаги йод эритмаси билан аралаштирилади. Крахмал тўлиқ 10 минутда парчаланиши керак (йод билан сариқ ранг ҳосил бўлади). Агар парчаланиш тезроқ кечса, сўлакни яна 2-3 ёки 4 барабар суюлтириш керак.

2. 8 та рақамланган пробиркаларга 2 мл ҳар хил рН - кўрсаткичли (5,4-8,0) фосфат буфер эритмаси қўйилади.

№ пробалар.....	1	2	3	4	5	6	7	8
рН.....	5,4	5,8	6,2	6,6	6,8	7,0	7,4	8,0

Ҳар бир пробиркага фосфат буфер эритмаси тоза пипетка билан солинади. Битта пипетка билан ишлаш мумкин эмас.

3. Ҳар бир пробиркага 1 мл крахмал эритмаси ва 0,5 мл дан суюлтирилган сўлак солинади ва 10 минутга стол штативида қолдирилади.

4. Ҳар бир пробиркадан 1 томчи суюқлик олиб, уни йод эритмаси билан буюм ойнасида аралаштирилади ва ранглар таққосланади. Яна 1-2 минутдан сўнг бу реакция қайтарилади. Бешинчи пробиркадаги олинган томчи йод билан қизил-алвон ранг бермагунча бу реакция пробиркаларга 2-3 томчидан йод эритмаси томизилади. Пробиркалар яхшилаб чайқатилади.

Ҳамма пробиркалардаги ҳосил бўлган ранг таққосланади ва крахмалнинг парчаланиш даражаси ҳақида хулоса чиқарилади, яъни ферментнинг активлиги ҳақида.

Амалий машғулот № 8.

Мавзу: Ферментлар таъсирини идора қилиш. Клиник энзимология.

4. Мақсад:

- Ферментлар активлигини идора этилиши ҳақида талабалар билан суҳбатлашиш;
- Активатор ва ингибиторларга ферментлар активлигини тобелигини кўрсатиш;
- Имобилланган ферментлар ҳақида тушунча бериш;
- Энзимотерапияга тегишли саволни ва муаммоларни кўриб чиқиш;
- Аниқ мисоллар асосида энзимопатия сабабларини ва даволаш методларини кўрсатиш;
- Турли регуляторларнинг ферментлар активлигига таъсирини амалий ишда кўриб чиқиб, олган билимни мустаҳкамлаш.

5. Вазифалар.

Машғулотдан сунг талаба билиш керак:

- Ферментлар активлигини идора қилишини турли хил типларини;
- Ферментларга ингибитор ва активаторлар таъсирини;
- Имобилланган ферментларни ишлатилишни;
- Клиник энзимология, энзимодиагностика, энзимотерапия ва энзимопатияни.

6. Машғулотни назарий қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

1) 1-топширик. Ферментлар активлигини идора қилиш.

- a) Аллостерик бошқариш;
- b) Оқсил ингибиторлари орқали идора қилиш;
- c) Ҳажм таъсири қонуни орқали бошқариш;
- d) Қайта боғланиш усулида бошқариш;
- e) Гормонлар орқали бошқариш;

- f) Фосфорилланиш ва дефосфорилланиш;
- g) Қисман протеолиз йўли билан бошқариш.
- 2) 2-топшириқ. Ферментларнинг ингибитор ва активаторларининг таъсири. Ферментларни ингибирловчи бирикмалар.
 - a) Қайтар ва қайтмас ингибирлаш;
 - b) Рақобатли ва рақобатсиз ингибирлаш;
 - c) Ферментларга активаторлар таъсири;
- 3) 3-топшириқ. Имобилланган ферментлар.
 - a) Иммобилизация принциплари;
 - b) Иммобилизацияни ҳужаликда ва тиббиётда қўлланилиши.
- 4) 4-топшириқ. Клиник энзимология.
 - a) Энзимодиагностика;
 - b) Энзимопатия;
 - c) Энзимотерапия.
- III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Амилаза активлигига активатор ва ингибиторларнинг таъсирини ўрганиш.
- VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Амилаза активлигига активатор ва ингибиторларнинг таъсири».

Текширилувчи материал: сўлак амилазаси.

Реактивлар: NaClнинг 1% ли эритмаси, мис (II) сульфатнинг 1% ли эритмаси, крахмалнинг 1% ли эритмаси. Калий йодидда тайёрланган йоднинг 1% ли эритмаси, дистилланган сув.

Керакли анжомлар: пробиркалар, пипеткалар ва 10 мл ўлчов цилиндрлари, сув ҳаммоми ёки термостат.

Иш тартиби. 1. Пробиркаларнинг биринчисига 10 томчи дистилланган сув, иккинчисига 8 томчи сув ва 2 томчи NaCl нинг 1% ли эритмаси. Учинчисига 8 томчи сув ва 2 томчи мис (II) сульфатнинг 1% ли эритмаси солинади.

2. Ҳар қайси пробиркага (1:10) суюлтирилган сўлак амилазасидан 20 томчи ва крахмалнинг 1% ли эритмасидан 20 томчи солиб аралаштириладида 5 дақиқа хона ҳароратида қолдирилади.

3. 1 мл сув солинган 3 та пробирка тайёрланади. Пробиркадаги сув йод эритмаси билан бўялади. Шу пробиркаларга юқоридаги тажриба пробиркалардаги суюқликдан 2-3 томчи солиб, крахмални амилаза таъсирида парчаланишидан ҳосил бўлган бўёқ кузатилади. Биринчи пробирка бинафша ёки қорамтир қизил рангга, иккинчи (NaCl солинган) сариқ рангга ва учинчи пробирка (мис (II) сульфат солинган) эса кўк рангга бўялганлиги кузатилади. Агар айтилган ранг кузатилмаса 10-15 дақиқадан сўнг қайтарилади. Натижалар жадвалга ёзилади:

фермент	субстрат	Фермент таъсир қилган вақт	Йод билан ҳосил бўлган ранг		
			Проба 1 (H ₂ O)	Проба 2 (NaCl)	Проба 3 (CuSO ₄)
Амилаза	Крахмал	5			
		10			
		15			

Амалий машғулот № 9.

Мавзу: Витаминлар ва уларнинг коферментлик функциялари, ёғда эрувчи витаминлар.

4. Мақсад: Талабалар билан витаминлар классификацияси тўғрисида мулоҳаза қилиш. Витаминларнинг коферментлик функцияларига алоҳида эътибор бериш. Ёғда эрувчи витаминларнинг аҳамиятини тушунтириб бериш.

5. Вазифалар.

Машғулотдан сўнг талабалар билиши керак:

- Витаминларнинг классификациясини;
- Витаминларнинг коферментлик функциясини;
- Ёғда эрувчи витаминларнинг ўзига хос хусусиятларини;
- Айрим витаминларга сифат реакциялар ўтказишни;
- Гипо, гипер ва авитаминозлар фарқини.

6. Машғулотни назарий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топшириқ. Витаминлар ҳақида умумий тушунча.
 - а) Витаминларнинг очилиши тарихи;
 - б) Кимёвий тузилиши;
 - с) Гипер, гипо ва авитаминозлар ҳақида тушунча.
 - 2) 2-топшириқ. Витаминларнинг классификацияси.
 - а) Ёғда эрувчи витаминлар;
 - б) Сувда эрувчи витаминлар.
 - 3) 3-топшириқ. Витаминларнинг коферментлик функциялари.
- III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Витамин А, Д, Е ларга сифат реакциялар.
- VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«А, Д, Е витаминларга сифат реакциялар».

1. Витамин А га сифат реакция.

Ишнинг бориши. Куруқ пробиркага хлороформда эриган 3 томчи балиқ мойидан томизилади. Унга 1 томчи концентраланган сульфат кислота қўшилади. Аввал пушти-бинафша, кейин қизил ранг ҳосил бўлади.

2. Витамин Д га сифат реакция.

Бромхлороформ пробаси.

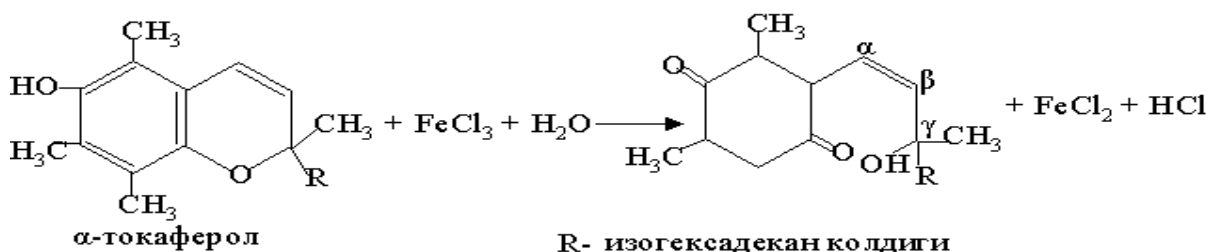
Усулнинг асоси. Балиқ мойи таркибидаги витамин Д бром-хлороформ эритмаси билан реакцияга киришиб кўк-яшил ранг беради.

Ишнинг бориши. Куруқ пробиркага 2-3 томчи балиқ мойидан ёки витамин Д концентратидан солинади. Унга 2-4 томчи бромнинг хлороформдаги (1:50) эритмасидан қўшилади. Натижада – кўк-яшил ранг ҳосил бўлади.

3. Витамин Е га сифат реакция.

Усулнинг асоси. α-токоферолнинг спиртдаги эритмаси темир (III) хлорид билан токоферотилхинонга оксидланади, натижада эритма қизил рангга киради.

Ишнинг бориши: Куруқ пробиркага 4-5 томчи α-токоферолнинг 0,1% ли



спиртдаги эритмаси солинади, унга 0,5 мл 1% ли темир хлорид эритмаси қўшилади ва яхшилаб аралаштирилади. Қизил ранг ҳосил бўлади.

Амалий машғулот № 10.

Мавзу: Сувда эрувчи витаминлар.

4. Мақсад: Н, С, РР ва В гуруҳ витаминларнинг тузилиши, аҳамияти ва коферментлик функциялари ҳақида талабалар билан мулоҳаза юритиш. Витаминсимон бирикмаларнинг тузилиши ва функцияларини тушунтириш. Овқат маҳсулотлардаги ва биологик препаратлардаги витаминларни аниқлаш учун анализлар ўтказиш.

5. Вазифалар.

Машғулотдан сунг талабалар билиши керак:

- В гуруҳ витаминлари ва Н, С, РР витаминларнинг тузилиши, суткалик эҳтиёжини, коферментлик функцияларини;
- Ферментларнинг кимёвий ва тиббий номлашни;
- Биологик объектлардаги витаминларни аниқлаш усулларини;
- Витаминсимон бирикмаларни ва уларни ажратишни;
- Антивитаминларнинг аҳамиятини.

6. Машғулотни назорат қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

II. Саволларни тахлил қилишга киришиш.

1) 1-топшириқ. Сувда эрувчи витаминлар.

- a) Витамин В₁ - тиамин;
- b) Витамин В₂ - рибофлавин;
- c) Витамин РР – никотинамид;
- d) Витамин В₆ – пиридоксин;
- e) Витамин Н – биотин;
- f) Витамин В_с – фолат кислота;
- g) Витамин В₃ – пантотен кислота;
- h) Витамин С – аскарбин кислота;
- i) Витамин Р – рутин.

2) 2-топшириқ. Витаминсимон моддалар.

- a) Парааминобензой кислота;
- b) Витамин В₁₅ – пангам кислота;
- c) Инозит;
- d) Коэнзим Q – убихинон;
- e) Витамин U – S-метилметионин;
- f) Липоат кислота;
- g) Холин.

3) 3-топшириқ. Антивитаминлар.

- a) Тузилиши бўйича витаминга ўхшаш витаминсимон моддалар;
- b) Витаминлар тузилишини ўзгаришига олиб келадиган антивитаминлар.

III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.

IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.

V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Витамин В₁, В₂, РР, В₆ ларга сифат реакциялар.

VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.

VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Витамин В₁, В₂, РР, В₆ ларга сифат реакциялар».

Витамин В₁га сифат реакция.

Оксидланиш реакцияси.

Усулнинг асоси. Ишқорий муҳитда тиамин калий феррицианид билан тиохромгача оксидланади. Тиохром эритмада флюроскопда ультрабинафша нурлар таъсирида кўк ранг беради.

Ишнинг бориши. 1 томчи 5% ли тиамин эритмасига 5-10 томчи 10% ли натрий гидроксид эритмасидан, 1-2 томчи 5% ли калий феррицианид эритмасидан қўшилади ва чайқатилади. Флюроскопни 10 минут давомида киздириб, ультрабинафша нурлар таъсирида эритманинг кўк флюоресценция беришни кузатимиз.

Диазореакция.

Усулнинг асоси. Ишқорий муҳитда тиамин диазореактив билан тўқ сариқ рангли мураккаб комплекс бирикма ҳосил қилади.

Ишнинг бориши. 5 томчи 1% ли сульфанил кислота эритмасида ва 5 томчи 5% ли натрий нитрат эритмаларидан ташкил топган диазореактивга 1-2 томчи 5% ли тиамин эритмасида қўшилади. Кейин эса пробиркани қийшиқ ҳолга келтириб, унинг девори бўйлаб аста-секин 5-7 томчи 10% ли натрий бикарбонат эритмасидан солинади. Иккита суюқлик чегарасида тўқ сарик рангли ҳалқа ҳосил бўлади.

Витамин В₂ га сифат реакция.

Усулнинг асоси. Витамин В₂ нинг оксидланган формаси ультрабинафша нурлар таъсирида сарик флюоресценцияга эга. Бу реакция витамин В₂ нинг тез қайтарилиш хоссасига асосланган; бунда сарик рангли витамин В₂ нинг эритмаси, оралиқ бирикмаларнинг ҳосил бўлиши ҳисобига аввал пушти рангга киради, кейин эса рангсизланади, чунки витамин В₂ нинг қайтарилган формаси рангсиз.

Ишнинг бориши. Пробиркага 10 томчи витамин В₂ эритмасида ва 5 томчи концентрланган хлорид кислотаси солинади. Кейин рух металлининг доначаси ташланади. Водород пуфакчаларнинг ажралиши бошланади ва суюқлик аста-секин пушти рангга кириб, кейин рангсизланади. Витамин В₂ нинг иккита формасини флюоресценциясини таққосланади.

Витамин РР га сифат реакция.

Усулнинг асоси. Витамин РР ни мис ацетат эритмаси билан қиздирилганда кук рангли никотин кислотасининг мис тузли чўкмаси ҳосил бўлади.

Ишнинг бориши. Олдин 3% ли витамин РР эритмасини чайқатиб олиш лозим. Кейин пробиркага ундан 20 томчи олиб, қайнагунча қиздирилади; бунда лойқа эритма рангсиз бўлиб қолади. 5% ли мис ацетат эритмаси чайқатиб, ундан қиздирилган витамин РР эритмасига 20 томчи солинади. Кейин пробиркадаги суюқлик қайнатилади ва тезда совуқ сув оқимида совитилади. Натижада пробирка тубида никотин кислотанинг мисли тузидан иборат кўк рангли чўкма ҳосил бўлади.

Витамин В₆ га сифат реакция.

Усулнинг асоси. Витамин В₆ хлорли темир билан реакцияга киришганда қизил рангли темир фенолятга ўхшаш комплекс туз ҳосил қилади.

Ишнинг бориши. 5 томчи 1% ли витамин В₆ эритмасига худди шу миқдорда 1% ли хлорли темир эритмасидан қўшилади ва аралаштирилади. Қизил ранг пайдо бўлади.

Амалий машғулот № 12.

Мавзу: Озиқланиш биокимёси. Модда алмашинувининг босқичлари.

4. Мақсад: Талабалар билан модда алмашинуви ва энергия алмашинувларини боғланган ҳолда кечишини муҳокама қилиш. Озуқа таркибидаги моддалар организмда алмашилиш натижасида тўқималар ва хужайраларнинг таркибий қисмларига айланишини ва организмни энергия билан таъминланишини муҳокама қилиш.

5. Вазифалар.

Дарсдан сўнг талабалар билиши лозим:

- Одам организми учун асосий энергия манбаи бўлиб озуқа моддалар таркибидаги кимёвий боғланишларида сақланган энергия хизмат қилишини;
- Модда алмашинувини икки йўналиши анаболизм ва катаболизм ҳақида тушунча ҳосил қилиш;
- Мембрана орқали моддаларни ташилиш йўллари билиш.

6. Машғулоти назарий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топшириқ. Моддалар алмашинуви. Озуқа биокимёси.
 - а) Озуқа таркибидаги асосий ва минор компонентлари;
 - б) Организмнинг ўз-ўзини бунёдга келтиришини – тирик организмлар учун энг характерли хусусиятдир.
 - 2) 2-топшириқ. Озуқа таркибида алмашинадиган ва алмашинмайдиган компонентлари.
 - а) Оксиллар қиймати;
 - б) Алмашинмайдиган аминокислоталар, ёғ кислоталар, витаминлар;
 - с) Минерал моддалар.
 - 3) 3-топшириқ. Анаболизм ва катаболизм жараёнлари.
 - а) Организмдаги моддалар алмашинувининг асосий йўналишлари;
 - б) Метаболитлар миқдорини бошқарилиши.
 - 4) 4-топшириқ. Биологик мембраналар.
 - а) Мембраналар тузилиши, функциялари;
 - б) Мембраналар ассиметрияси, суюқликлиги.
 - 5) 5-топшириқ. Биомембраналар орқали моддалар ташилиши.
 - а) Диффузия, оддий ва енгиллашган;
 - б) Актив транспорт;
 - с) Эндоцитоз, фагоцитоз, симпорт, антипорт.
- III. Ўқитувчининг машғулоти саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Мушак сукцинатдегидрогеназасини фаолияти ва уни рақобатли ингибирланиши.
- VI. Талабаларни машғулотидаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулоти мавзусини тушунтириш.

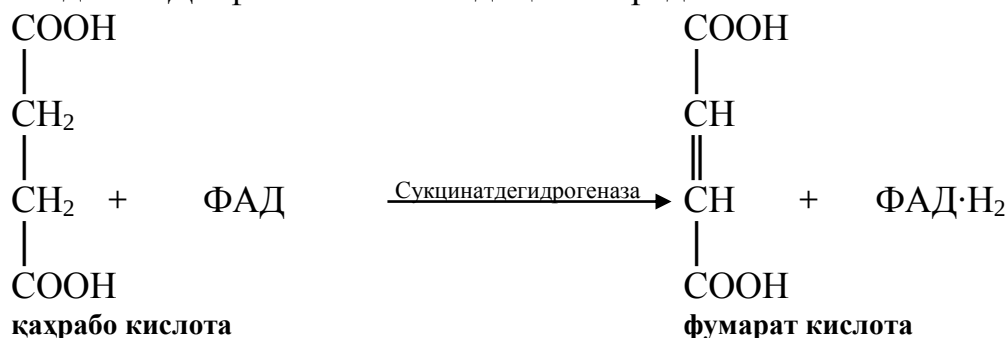
Лаборатория иши:

«Мушак сукцинатдегидрогеназасини фаолияти ва уни рақобат йўли билан ингибирланиши».

Биологик оксидланиш жараёнида табиати жиҳатидан уч хил фермент иштирок этади. Буларга НАД га боғлиқ бўлган, ФАД га боғлиқ бўлган дегидрогеназа ферментлари ва гем тутувчи ферментлар – цитохромлар киради.

Сукцинатдегидрогеназа (СДГ) – темир флавопротеид ферментлар туркумига кириб, хужайра митохондриясида жойлашади.

Усулнинг асосланиши. Сукцинатдегидрогеназа ферменти ФАД коферментига боғлиқ. ФАД сукцинатни оксидлаб (унинг водородини ўзига тортиб олади) ўзи қайтарилади. Қайтарилган ФАДН₂ бошқа оксидланган акцепторга дихлорфенолиндофенолга водород электронларини узатади. Кўк рангдаги оксидланган дихлорфенолиндофенол қайтарилганда рангсизланади ва мушак таркибидаги СДГ фаоллигини тасдиқлаб беради.



Иш тартиби. 1. Ферментни ажратиш. 1-2 г янги мушак тўқимаси қайчи ёрдамида майдаланади ва чинни ҳовончада сув билан эзилади. Ҳосил бўлган мушак қиймаси икки қаватли дока орқали воронкадан ўтказилади. 25 мл сувда ювилган мушак қиймаси тоза пробиркага олинади ва устига 4 мл сув солиб шиша таёқча билан аралаштирилади. Пробиркадаги аралашма уч қисмга бўлинади. Биринчи пробиркадаги мушак ферментининг фаоллиги қайнатиш йўли билан йўқотилади (ноактивланади).

2. Фермент фаоллигини аниқлаш. Қуйидаги жадвалга биноан реакцион аралашма тайёрланади.

Пробиркалар	Сукцинат, мл	Дистилланган сув, мл	Дихлорфенол- индофенол
1	1,0	0,5	2 томчи
2	1,0	0,5	2 томчи
3	-	1,5	2 томчи

Пробиркадаги суюқлик аралаштирилиб 15 дақиқа 37⁰С ли термостат ёки сув хаммомида ушланади. Дихлорфенолиондофенолнинг рангсизланишини кузатамиз.

Амалий машғулот № 13

Мавзу: Сут биокимёси.

4. Мақсад:

- Талабаларга сут безларини ривожланиши, сутни ҳосил бўлиши ва ажралиши тўғрисида тушунча бериш.
- Сутнинг таркибий қисмларини кўриб ўтиш.
- Сутнинг таркибий қисмига сифат реакцияларни ўргатиш.

5. Вазифалар.

Дарсдан сўнг талабалар билишлари керак:

- Лактация жараёнини бошқарилишини;
- Сут таркибидаги оксилларни, уларни аҳамиятини;
- Сут таркибидаги асосий углеводларни ва уларни аҳамиятини;
- Сут таркибидаги асосий ёғларни ва уларни аҳамиятини;
- Сут таркибидаги витаминлар ва минерал моддлар ҳақида тушунча;
- Сут таркибидаги ҳимоя воситаларни ва уларни клиник аҳамиятини;
- Сут таркибидаги гормонлар ва бошқа биологик фаол моддаларни;
- Сутни таркибий қисмларига сифат реакцияларни.

6. Машғулоти назарий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топшириқ. Лактация жараёнини бошқарилиши.
 - 2) 2-топшириқ. Оғиз сутини етилган сутдан фарқи.
 - 3) 3-топшириқ. Сут таркибидаги оксилларни, уларни аҳамияти.
 - 4) 4-топшириқ. Сут таркибидаги асосий углеводларни ва уларни аҳамияти.
 - 5) 5-топшириқ. Сут таркибидаги асосий ёғларни ва уларни аҳамияти.
 - 6) 6-топшириқ. Сут таркибидаги витаминлар ва минерал моддлар ҳақида тушунча.
 - 7) 7-топшириқ. Сут таркибидаги ҳимоя воситаларни ва уларни клиник аҳамияти.
 - 8) 8-топшириқ. Сут таркибидаги гормонлар ва бошқа биологик фаол моддалар.
 - 9) 9-топшириқ. Сутни таркибий қисмларига сифат реакциялар.
- III. Ўқитувчининг машғулоти саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Мушак таркибидаги макроэргик бирикмалар (АТФ ва креатин фосфат) миқдорини аниқланг.
- VI. Талабаларни машғулотидаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулоти мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

СУТ ОҚСИЛИ – КАЗЕИННИ АЖРАТИШ

Сут таркибида альбумин, глобулин ва мураккаб оксил – фосфопротеидлар вакили бўлган казеин бор. Казеин сут оксилларининг 80% ини ташкил қилади. Казеин нордон хоссага эга бўлиб, унинг изоэлектрик нуқтаси рН и 6,7 атрофида. Казеин кальций тузлари билан бириккан бўлиб, эриган ҳолатда бўлади. Сут ачиганда ёки у нордонлаштирилганда (кислота қўшилганда) казеин ипир-ипир чўкмага тушади.

Текширилувчи материал: сут.

Реактивлар: хлорид кислотанинг 1% ли эритмаси, дистилланган сув, натрий гидроксиднинг 10% ли эритмаси, нитрат кислотанинг концентранган эритмаси, молибден реактиви, мис (II) – сульфатнинг (CuSO₄) 1% ли эритмаси.

Керакли анжомлар: 50 мл сифимли кимёвий стакан, 50 мл сифимли цилиндрлар, шиша таёкча, воронка, фильтр қоғозлар.

Бажариладиган иш тартиби. 1. 50 мл сиғимли кимёвий стаканга 3 мл сут ва 7 мл дистилланган сув солинади. Суюқликлар аралаштирилиб, устига 10-15 томчи 1% ли хлорид кислота эритмаси кўшилади. Кислота жуда эҳтиёткорлик билан томчилаб солинади, чунки хлорид кислотанинг ортиқча миқдори казеин чўкмасини эритиб боради. 3-5 дақиқа ўтгандан кейин ипир-ипир чўкма ҳосил бўлади.

2. Хлорид кислотадан холи бўлиш учун стаканга 10 мл дистилланган сув солиб, 5 дақиқа қолдирилади. Сўнгра чўкма устидаги суюқлик осойишталик билан олиб ташланади. Чўкмага яна бир марта дистилланган сув солиб, хлорид кислотанинг ортиқча қисми олиб ташланади. Пробиркадаги суюқлик аста-секин аралаштирилади ва 5 дақиқа ўтгач аралашма қоғоз филтрдан ўтказилади.

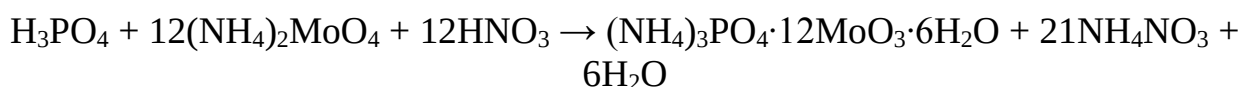
3. Казеин таркибида фосфор борлигига ишонч ҳосил қилиш учун казеин ишқорий муҳитда парчаланади (гидролизланади), гидролизат таркибидаги фосфор молибден реактиви ёрдамида аниқланади. Бунинг учун филтлдаги чўкма қайтар музлатгичли кенг пробиркага олинади ва унга 6 мл 10% ли натрий гидроксид эритмаси солинади. Пробирка кум ҳаммомида бир соат давомида қиздирилади. Суюқлик совитилгандан сўнг концентрланган нитрат кислота (20-30 томчи) билан лакмус бўйича кучсиз нордон муҳитгача нейтралланади. Нейтраллаш жараёнида оксилларнинг чала парчаланган юқори молекулали маҳсулоти чўкмага тушади.

4. Эритма тиндирилгандан сўнг филтрланади. Сўнгра суюқликдан олиб оксилга хос Биурет ва фосфор кислотага хос молибден реакцияси ўтказилади:

а) 5 томчи гидролизатга 1-2 томчи натрий гидроксиднинг 10% ли эритмасидан ва 2 томчи мис II сульфат тузининг 1% ли эритмасидан солинади. Ҳосил бўлган бинафша ранг оксил борлигини исботлайди.

б) 10 томчи молибден реактивига 5 томчи гидролизат солиб, бир неча дақиқа қайнатилади. Эритма оч сариқ рангга бўялади. Аралашма совитилгач сариқ рангли комплекс бирикма чўкмага тушади. Бу фосфор кислота борлигини исботлайди.

Ушбу реакция тенгламаси куйидагича:



Олинган натижаларни расмийлаштириш. Казеин оксили ажратилишининг қисқача шартини, гидролизат билан ўтказилган рангли реакцияларнинг асосланишини ва унинг натижасини дафтарингизга ёзинг.

Сутни солиштирма зичлигини аниклаш

Анализ учун сутнинг маълум миқдори цилиндрга куйилади ва устига ареометр солинади. Ареометрнинг чуқиш даражасига караб сутнинг солиштирма зичлиги аниқланади. Нормада

Аёллар сутини зичлиги – 1,026

Сигир сутини зичлиги – 1,028

Сутни кислоталигини титрлаш усули билан аниклаш.

Сутнинг титрацион кислоталиги деб фенолфталеин ёрдамида 100 мл сутни титрлаш учун ишлатилган 0,1Н натрий ишкорининг миқдори ҳисобланади.

2 та колбага 10 мл дан сут қуйилади. Сунгра ҳар бирига 2-3 томчидан фенолфталеин эритмаси солинади. Колбалардан биттасини олиб ундаги эритма оч пушти рангга киргунча 0,1Н NaOH билан микробюреткада титрланади. Бу рангни ҳосил бўлишини кузатишда 2-чи колбадаги сутни ранги билан солиштирилади.

Натижани қуйидаги пропорция билан ҳисобланади:

$$a-10\text{мл}, x-100\text{мл}, x=(a \times 100)/10$$

Бу ерда: а – титрлаш учун кетган NaOH миқдори (мл)

х титрацион кислоталик.

Аёллар сутнинг кислоталиги – 5-9

Сигир сутнинг кислоталиги – 17-18

Амалий машғулот № 14.

Мавзу: Энергия алмашинуви. Мушакдаги микрорэргик бирикмаларини миқдорини (АТФ ва креатинфосфат) аниқлаш.

4. Мақсад:

- Талабалар билан биологик оксидланиш жараёни қерда кечиши ва унинг вазифаларини муҳокама қилиш.
- Талабалар билан субстратлардан электронларни молекуляр кислородга ташилишида қатнашадиган ферментларни муҳокама қилиш.
- Оксидланиш фосфорланиш жараёнини митохондриялар билан боғлиқлигини, митохондриялар тузилиши ва функциялари билан таништириш.

5. Вазифалар.

Дарсдан сўнг талабалар билишлари керак:

- Одам организмида кечадиган биологик оксидланиш жараёнини;
- Субстратлардан молекуляр кислородга электронларни ташилишида қатнашадиган ферментларни;

6. Машғулотни назарий қисми.

VIII. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

IX. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

- 1) 1-топширик. Энергия алмашинуви. Биологик оксидланиш ҳақида тушунча.
 - а) Энергия алмашинуви ҳақида тушунча;
 - б) Биологик оксидланиш.
- 2) 2-топширик. Биологик оксидланиш ферментлари.
 - а) НАД га боғлиқ дегидрогеназалар;
 - б) ФАД га боғлиқ дегидрогеназалар;
 - с) Нафас занжири ферментлари.

3) 3-топширик. Нафас занжири.

а) Нафас занжирини тузилиши ва жойлашиши;

б) АТФ ни организмда ҳосил бўлиш йўллари.

4) 4-топширик. Электронлар ташилишидаги оксидланиш-қайтарилиш потенциаллар қиймати.

X. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.

XI. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.

XII. Амалий қисм. Лаборатория иши: Мушак таркибидаги макроэргик бирикмалар (АТФ ва креатин фосфат) миқдорини аниқланг.

XIII. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.

XIV. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Мушакдаги макроэргик бирикмаларни миқдорини (АТФ ва креатинфосфат) аниқлаш».

Мушак тўқималарида икки хил макроэргик бирикма учрайди. Улар АТФ ва креатинфосфатдир. Улар мускулларни қисқариши учун керак даражадаги энергия билан таъминлайди.

АТФ ҳосил бўлишининг асосий йўли тўқималарнинг нафас олиш жараёнида бўладиган оксидловчи фосфорланишидир. Креатинфосфат эса АТФ иштирокида ҳосил бўлиб, тинч ҳолатда қўшимча макроэргик (энергия тутувчи) манба ва мушаклар фаолияти ошганда АДФ дан АТФ ҳосил бўлишини тезлатувчи омилдир.

Усулнинг асоси. АТФ ва креатинфосфат таркибидаги фосфор қолдиғи кислотали гидролизланганда осон ажралади. Назорат тажрибада (гидролизгача бўлган) фосфор миқдори ва гидролиздан сўнг аниқланган фосфор (текширилувчи тажриба) миқдорини солиштириш йўли билан кучсиз боғланган фосфор миқдорини ўлчаш мумкин. Ажралган фосфор миқдори аммоний молибдатнинг аскорбин кислота иштирокида берган рангли реакцияси асосида аниқланади.

Иш тартиби. 1. 0,5 г мушак қиймаси солинган пробирка муз ҳаммомига қўйилади, устига совитилган УХСК эритмасидан 5 мл солинади. Пробиркадаги суюқлик шиша таёқча билан АТФ ни ажратиб олиш учун аралаштирилади. Бундай креатинфосфат ҳам ажралади. Суюқлик 5 дақиқа давомида аралаштирилади. Олинган аралашма музга жойлаштирилган пробиркада филтрланади.

Қолган мушак қиймасига яна 5 мл дистилланган сув солиб, паст ҳароратда 5 дақиқа давомида макроэргик бирикмаларни ажратиш давом эттирилади. Олинган экстракт суюқлик ҳажми дистилланган сув билан 10 мл га етказилади.

2. Иккита пробиркага оксигенсиз филтратдан 0,5 мл солинади. Унинг бири назорат тажриба, иккинчиси – текширилувчи тажрибадир.

Текширилувчи пробиркага водород хлориднинг 1 моль/л эритмасидан 1 мл солиб, усти зар қоғоз билан беркитилиади ва фосфор боғларини ўзиш мақсадида қайнаб турган сув ҳаммомида 10 дақиқа қиздирилади. Суюқлик

совитилгандан сўнг натрий гидроксиднинг 1 моль/л эритмасидан 1 мл солинади. Назорат пробиркасига эса суюқликни қайнатмай туриб водород хлорид ва натрий гидроксид эритмаларидан 1 мл дан солинади.

Текширилувчи ва назорат пробиркаларига суюқликларнинг ҳажми 10 мл га етгунча дистилланган сув солинади (7,5 мл).

3. Кейинги ишлар текширилувчи ва назорат тажрибалар учун бир вақтда олиб борилади. Иккала пробиркадан 5 мл дан суюқлик олиб бошқа пробиркаларга солинади. Уларнинг ҳар бирига аммоний молибдат эритмасидан 0,5 мл, аскорбин кислотада 0,5 мл ва 2 мл дистилланган сув солинади. Суюқликлар аралаштирилиб 10 дақиқага хона ҳароратида қолдирилади.

4. Назорат ва текширилувчи суюқликлар ФЭК нинг қизил нур фильтрида (670 нм тўлқин узунлигида) кўрилади. Текширилувчи пробиркада аниқланаётган аорганик фосфат (гидрлиздан кейин) бўш боғланган фосфат кислота ва фосфат тузларининг йиғиндиси ҳисобланади. Назорат тузларидан иборатдир.

5. Текширилувчи суюқлик учун топилган оптик зичлик кўрсаткичидан назорат учун топилган оптик зичлик кўрсаткичи айрилади. Буш боғланган аорганик фосфатнинг текширилувчи тажриба учун олинган миқдори олдиндан тайёрланган ўлчов эгри чизиғидан топилади.

Амалий машғулот № 15

Мавзу: Мушак цитохромоксидазаси.

4. Мақсад: Талабалар билан мушак цитохромоксидазани таъсирини, ферментни ҳужайрада жойлашишини ва таъсир этиш механизминини муҳокама қилиш. Талабаларга биологик оксидланиш жараёнини оксидланиш-фосфорланиш жараёнларни мазмунини тушунтириш.

5. Вазифалар.

Дарсдан сўнг талабалар билишлари керак:

➤ Тажрибада мушак цитохромоксидазасини фаолиятини кўрсатиш ва шу ферментни тузилиши, функцияси ва жойлашиши ҳақида тушунча ҳосил қилиш.

6. Машғулотни назарий қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

1) 1-топшириқ. Оксидланиш фосфорланиш.

а) Трансmemбрана потенциалини ҳосил қилиниши;

б) Оксидланиш жараёни билан бириккан фосфорланиш.

2) 2-топшириқ. АТФ синтезининг асосий йўллари.

а) Оксидланиш фосфорланиш йўллари;

б) Субстрат фосфорланиш йўли.

3) 3-топширик. Нафас назорати.

III. Ўқитувчининг машғулоти саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.

IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.

V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Мушак цитохромоксидазасини фаоллигини аниқлаш.

VI. Талабаларни машғулотидаги баҳоси.

VII. Кейинги машғулоти мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Мушак цитохромоксидазасини аниқлаш».

Цитохромоксидаза ферменти тўқима нафас олиш занжирида, электронларни кислородга ўтказиш жараёнида иштирок этади. Ушбу жараённинг маҳсулоти сифатида ички сув ҳосил бўлади. ЦХО табиати жихатидан мис, темир тутувчи оксидир (металлопротеид). Фермент митохондрия билан мустаҳкам боғланган.

Усулнинг асоси. Цитохромоксидаза ферменти иштирокида фенилендиамин, α-нафтол ва кислород билан, оксидланган индофенол кўк бирикмасини ҳосил қилишдан иборат.

Иш тартиби. 1. Мушакдан ферментни ажратиш. 0.3-0,5 г янги мушак 1:20 нисбатда дистилланган сув билан чинни ҳовончада эзилади. Қиймани филтър қоғоз варақлари орасига солиб сувдан ажратилади.

2. Ювилган ва тозаланган мушак қиймаси икки қисмга ажратилади. Унинг бир қисми филтър қоғозга, иккинчи қисми 1 мл дистилланган сув солинган пробиркага солиб қайнатилади. Суюқлик совитилгандан сўнг суви аста-секин тўкиб ташланади. Пробирка тубида қолган модда шиша таёқча билан филтър қоғозга олинади.

3. Филтър қоғоз устидаги ҳар иккала мушак қиймасига 1-2 томчи «Нади» индофенол реактиви томизилади. 5-10 дақиқа ўтгач мушак қиймасининг бири кўкимтир-бинафша рангга бўялади. Ушбу ранг цитохромоксидаза ферментининг п-фенилендиамин ва α-нафтолни оксидланган индофенол бирикмасини ҳосил бўлиш реакциясини тезлатганини исботлайди. Қайнатиш билан мушак қиймасида фермент фаоллиги тўхтатилган. Шу боис мушакнинг бу қисмида реакция содир бўлмайди.

Амалий машғулоти № 16.

Мавзу: Қон зардоби ва сийдик таркибидаги пирозум кислота миқдорини аниқлаш.

4. Мақсад: Талабалар билан катаболизмнинг умумий йўллари аҳамиятини, катаболизмнинг умумий йўллари ва нафас занжирида кечаётган жараёнларни бир-бири билан боғлиқлигини ўргатиш.

5. Вазифалар.

Машғулотида сўнг талабалар билишлари керак:

- Сийдик ва қон зардобида пируват миқдорини аниқлашнинг клиник-диагностик аҳамиятини;
- Организмда асосий макроэргик бирикма АТФ нинг тузилиши ва вазифалари тўғрисида билимларини мустаҳкамлаш ва кенгайтириш;
- Биологик оксидланиш ҳақидаги билимларидан фойдаланиб нафас олиш механизмларини тушунтириш ва уни озикланиш ва турли гипоксия ҳолатлари билан боғлиқ бўлган патологик ҳолатларнинг тахлили учун фойдаланиши лозим.

6. Машғулоти назорий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топшириқ. Катаболизмнинг умумий йўллари.
 - а) Катаболизмнинг йўллари иккига бўлиниши: специфик ва умумий.
 - б) Катаболизмнинг умумий йўллари бошқичларини схемаси.
 - 2) 2-топшириқ. Катаболизмнинг аҳамияти.
 - а) Катаболизмнинг умумий йўлларида водород донорларини ҳосил бўлиши.
 - б) НАД-га боғлиқ ва ФАД-га боғлиқ дегидрогеназалар ферментларини аҳамияти.
 - с) Катаболизмнинг умумий йўллари бошқарилиши, АТФ/АДФ миқдорида боғлиқлиги.
 - 3) 3-топшириқ. Пироузум кислотани оксидловчи декарбоксиланиши.
 - а) Реакциялар кетма-кетлиги
 - б) Қатнашаётган ферментлар ва коферментлар аҳамияти ва ҳосил бўладиган охирги маҳсулотларини тақдири.
 - 4) 4-топшириқ. Цитрат цикли.
 - а) Кребс ҳалқасидаги кечадиган реакциялар кетма-кетлиги.
 - б) Кребс ҳалқасида ҳосил бўладиган нафас занжирининг субстратлари яъни водород донорлари.
 - с) Битта молекула Ацетил-КоА нинг Кребс ҳалқасида парчаланишидан чиқадиган АТФ молекулалари сони.
 - д) Кребс ҳалқасини нафас занжири билан боғлиқлиги.
- III. Ўқитувчининг машғулоти саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Қон зардобиди ва сийдик таркибидаги пироузум кислота миқдорини аниқлаш.
- VI. Талабаларни машғулотидаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулоти мавзусини тушунтириш.

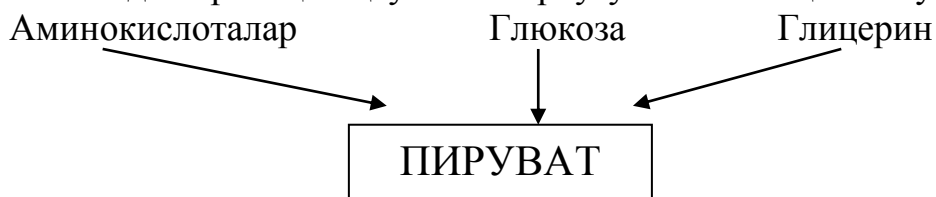
Лаборатория иши.

«Қон зардобиди ва сийдик таркибидаги пироузум кислота миқдорини аниқлаш».

Мураккаб моддалар меъда ва ичакларда ферментлар таъсирида парчаланганда аминокислоталар, моносахаридлар, глицерин ва ёғ кислоталар

ҳосил бўлади. Улар тўқима ҳужайраларига тушгандан сўнг ҳужайра цитоплазмасида ўзига хос йўллар билан ферментлар таъсирида парчаланишни давом эттиради.

Айрим аминокислота (аланин, серин ва ҳ.к.) лардан ва глюкозанинг парчаланишидан оралиқ маҳсулот – пирозум кислота ҳосил бўлади.



Пирозум кислотанинг навбатдаги оксидланиши ҳужайралардаги АТФ/АДФ миқдорида боғлиқ бўлади. АТФ миқдорининг камайиши, АДФ нинг ортиши пируватдегидрогеназа комплекси фаоллигининг амалга ошишига олиб келади. Бу жараён кислород бўлишини талаб қилади. Кислород етишмовчилигида эса пируват сут кислотагача оксидланади (анаэроб оксидланиш). Аэроб шароитда пируватдегидрогеназа, ацетилтрансфераза ва дегидропоатдегидрогеназа ферментлари ҳамда (ТПФ) – тиаминпирофосфат, оксидланган липоат, КоА, НАД, ФАД коферментлари қатнашади. Пируватдегидрогеназа комплексининг мол массаси 7-10 млн. бўлиб, унинг таркибига 30 молекулагача биринчи фермент, иккинчи фермент ва 10 молекулагача 3-фермент киради. Пируватнинг оксидланиши кетма-кет, босқичма-босқич амалга оширилади ва реакция маҳсулоти – $\text{CH}_3\text{CO} - \text{S-CoA}$ ҳосил бўлади. Пирозум кислотанинг оксидланишида қатнашадигн коферментлар таркибига B_1 , B_2 , РР, пантотен ва липоат витаминлари киради. Шу витаминлар етишмовчилигида, қандли диабет касаллигида, юрак фаолияти сусайганда, гипофизар-адренал система фаоллиги ортганда ва айрим дорилар таъсирида (камфора, стрихнин, адреналин наркотик моддалар) қон зардоби ва сийдик таркибида пирозум кислота миқдори ортади ёки камаёди.

Пирозумдегидрогеназа комплекси митохондрияда жойлашади, шунинг учун пируват митохондрия матриксида оксидланади. Пирозум шунингдек карбоксилланиб оксалоацетатга айланади. Оксалоацетат Кребс ҳалқасида сирка кислотанинг фаол турини цитратга айланишида асосий субстрат ҳисобланади. У етишмаганда Кребс ҳалқасининг фаоллиги сусаяди ва дегидрат субстратлари ҳосил бўлмаслигига ва АТФ етишмаслигига сабаб бўлади. Шунинг учун пирозум кислота миқдорини аниқлаш амалий аҳамиятга эга. Кичик ёшдаги болалар организмида пирозумнинг анаэроб йўл билан сут кислотагача оксидланиши устун туради. Бола ўсиши билан бу устунлик ҳам камайиб боради.

Усулнинг асоси: Пируват 2,4-динитрофенилгидрозин билан ишқорий шароитда қизил-қўнғир рангли 2,4 динитрофенилгидрозонни ҳосил қилади. Рангнинг зичлиги пирозум кислота миқдорида тўғри келади. Рангнинг зичлиги фотоэлектроколориметрда ўлчанади.

Иш тартиби. Тўртта пробирка олинади. Унинг биринчисига 1 мл сийдик (текширилувчи тажриба) ва учинчи, тўртинчи пробиркаларга 1 мл дан

дистилланган сув солинади ДНФГ нинг 1% ли эритмасидан солиб аралаштирилади.

2. Бир оз вақт ўтгач, пробиркаларга 3 мл толуол солинади, улар зарли беркитгичлар билан ёпилиб 3 дақиқа чайқатилади ва яна 2-3 дақиқага қолдирилади. Суюқликлар икки қаватга ажралади. Унинг юқорисидagi толуол қавати аста-секин сўриб олинади.

3. Суюқликларнинг пастки қавати бошқа қуруқ пробиркага ўтказилади ва устига калий гидроксид эритмасидан 2 мл солинади.

10 дақиқа ўтгач ривожланган ранг зичлиги ФЭК нинг 4-нур филтри қаршисидa ўлчанади.

«Пироузум кислотани миқдорини ҳисоблаш».

Пироузум кислота миқдорини олдиндан тайёрланган ўлчов эгри чизигидан топилади. Топилган миқдор бир суткада ажратилган сийдик миқдори (1200-1500 мл) га кўпайтирилади. Қон зардоби таркибидagi пироузум кислота миқдори эса 1000 мл қон зардоби учун ҳисобланади. Ўлчов эгри чизигидан топилган миқдор 1000 га кўпайтирилади.

Амалий машғулот № 17.

Мавзу: Углевод алмашинуви. Углеводларнинг ҳазм бўлиши.

4. Мақсад: Талабаларни жигардан гликогенни ажратиб олиш ва аниқлаш усулларга ўрганиш.

5. Вазифа.

Машғулотдан сўнг талабалар билиши керак:

- Овқат билан кирадиган углеводларнинг функциясини ва тузилишини;
- Жигарда ва мушаклардаги гликогенни синтезланиши ва парчаланишини, бу реакцияларнинг бошқарилишини;
- Углевод алмашинувини бузилишига боғлиқ касалликларнинг патогенезини тушунтириш (лактоземия, гликогенозлар, аглюкогенозлар).

6. Машғулотни назарий қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

- 1) 1-топшириқ. Овқат таркибидagi асосий углеводлар, уларнинг ҳазм бўлиши.
 - а) Углеводларнинг классификацияси. Организмнинг ҳаёт фаолиятида углеводларнинг аҳамияти.
 - б) Ошқозон-ичак трактида углеводларнинг ҳазм бўлиши. Ферментлар.
- 2) 2-топшириқ. Сутни кўтара олмаслик.
 - а) Лактоземия сабаблари.
 - б) Лактоземия белгиларини йўқотиш йўллари.
- 3) 3-топшириқ. Тўқималарда сўрилаётган углеводларнинг кейинги тақдири.
- 4) 4-топшириқ. Жигар ва мушаклардаги гликоген синтези ва парчаланиши. Регуляция.

- а) Гликоген синтези реакцияларини кетма-кетлиги, ферментларнинг иштироки. Гормонал регуляция.
 - б) Жигар ва мушакда гликоген парчаланиши. Ферментлар иштироки. Гормонал регуляция.
- 5) 5-топшириқ. Гликоген касалликлар (гликогенозлар ва агликогенозлар).
- а) Гликогеноз турлари, келиб чиқиши сабаблари.
 - б) Агликогенозлар, келиб чиқиш сабаблари.
 - с) Гликогеноз ва агликогенозларни клиник мазмуни.
- III. Ўқитувчининг машғулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли ўйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Ошқозон-ичак трактида углеводнинг ҳазм бўлиши.
- VI. Талабаларни машғулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

1. Лаборатория иши. «Карбонсувларнинг меъда-ичак йўлларида парчаланиши».

Карбонсувларнинг парчаланиши сўлак, меъда ости бези шираси, ичак шираси, ичак шираси ферментлари таъсирида амалга оширилади. Бу ферментлар амила ферментлар бўлиб, уларга альфа, бетта, гамма амилазалар, лактазалар, сахаразалар ва мальтазалар киради.

Текширилувчи материал: меда, меъда ости бези ширасининг 5% ли эритмаси, сўлак.

Реактивлар: крахмалнинг 1% ли эритмаси, целлюлозанинг 1%лиэритмаси, натрий гидроксиднинг 10% ли эритмаси.

Керакли анжомлар. Штативлар, пипеткалар, пробиркалар, бюреткалар, 37°C ли термостат ёки сув хаммоми, газ горелкаси.

Бажариладиган иш тартиби. Қуйидаги жадвалга мувофиқ тажриба пробиркалари тайёрланади.

Пробиркадаги суюкликлар аралаштирилиб, 37°C ли термостатга 30дақиқага жойлаштирилади. Бир оздан сўнг прообиркаларга солинган полисахаридларнинг парчалангани ҳосил бўлган маҳсулотларга Тромер реакцияси ўтказиш билан аниқланади. Бунинг учун ҳар қайси пробиркага 10% ли натрий гидроксид ва мис (II) сульфат эритмасидан 5 томчидан солиб, бир дақиқа давомида аста-секин қиздирилади. Эритманинг қизил рангга кириши мис (I) оксид ҳосил бўлганини кўрсатади ва крахмалнинг мальтозгача параланганини исботлайди (троммер реакциясини ўтказиш учун пробиркадаги эритмаларга натрий гидроксид ва мис (II) сульфат эритмасидан 5 томчи солинади ва қиздирилади.

52-жадвал

Пробиркалар	Крахмал эритмаси,	Целлюлоза эритмаси, мл	Сўлак,мл	Меъда шираси, мл	Меъда ости бези шираси,
-------------	-------------------	------------------------	----------	------------------	-------------------------

	мл				мл
1	1,0	-	1,0	-	-
2	-	1,0	1,0	-	-
3	1,0	-	-	1,0	-
4	-	1,0	-	1,0	-
5	1,0	-	1,0	1,0	-
6	-	1,0	1,0	1,0	-
7	1,0	-	-	-	2,0
8	-	1,0	-	-	2,0

Олинган натижаларни расмийлаштириш. Олинган натижалар куйидаги жадвалга ёзиб расмийлаштирилади.

53-жадвал

Пробиркалар	Субстрат номи	Реакция маҳсулоти	Ферментнинг номи	Фермент манбаи	Меъда ичак қисми	Натижа

2. Лаборатория иши. «Жигар гликогенини ажратиш»

Гликоген оксилга ўхшаб гидрофиллик (сувни севиш) хоссасига эга. Унинг шу хоссасидан фойдаланиб, ишқорий ва ишқорий-ер металл тузлари ёрдамида тузлаш усули билан ёки оғир металл тузлари ҳамда спирт таъсирида чўктириб гликогеннинг сувли эритмасини ажратиш мумкин.

Ўртача овқатланадиган одам жигарида 80-120 г гликоген йиғилади. Бир кун оч қолган одамнинг барча гликогени парчаланиб, одатдаги сифат реакциялар билан гликогенни аниқлаб бўлмайди.

Текширилувчи материал: бир кун оч қолган ва оч қолмаган ҳайвон жигари.

Реактивлар: Ухлорсирка кислотанинг (УХСК) 5% ли эритмаси, этил спирти, аммоний сульфат тузи кукуни, қўрғошин ацетатнинг 10% ли эритмаси, йоднинг калий йодда тайёрланган 1% ли эритмаси.

Керакли анжомлар: Дорихона тарозиси ва кадоқлари, штатив ва пробиркалар, воронкалар, шиша таёқчалар, қоғоз филтрлар, чинни ховонча, кимёвий стаканлар, газ горелкаси.

Усулнинг асоси. Ушбу усул гликогенни сувда яхши эриши ва кучсиз кислотали шароитда турғун бўлишига асосланган. Гликогенни ажратиш тўқимани механик равишда парчалаб, 5% ли УХСК эритмаси ёрдамида экстракциялаш (гликогенни эритмага чиқариш) дан иборат. Бу шароитда оксиллар денатурацияланиб, чўкмага тушади. Чўкма эритмадан филтрлаш йўли билан олиб ташланади.

Бажариладиган иш тартиби. 1. Тажриба учун бир кун оч қолдирилган овқат берилган ҳайвон жигари олинади. Ўлдирилган ҳайвон жигари тезлик билан ажратилади, қондан тозаланади, қайчи билан майда бўлакчаларга бўлинади ва стаканда қайнаб турган физиологик эритмага солиниб, фосфорилаза ферменти кучсизлантирилади. 10-15 дақиқадан сўнг жигар бўлакчалари стакандан олинади.

2. Жигар бўлакчаси 0,5 г қилиб тортиб олинади ва чинни ҳовончага солинади. Унинг устига УХСК нинг 5% ли эритмасидан 3 мл солиб, ўн дақиқа давомида яхшилаб эзилади. Сўнгра устига 3 мл дистилланган сув солиб яхшилаб аралаштирилади ва ҳўлланган фильтр қоғоз орқали тоза пробиркага ўтказилади.

3. Ажратилган гликоген сифат реакцияси билан аниқланади.

а) биринчи пробиркага 10 л дистилланган сув, иккинчи ва учинчи пробиркаларга 1 мл гликоген фильтрати солинади ва уччала пробиркага 1-3 томчи йод эритмаси томизилади. Пробиркалардаги эритмаларнинг ранги солиштирилади.

б) учта пробиркага тўйиб овқатланган ҳайвон жигаридан тайёрланган фильтратдан 10 томчи солинади. Сўнгра биринчи пробиркага 10 томчи этил спирти, иккинчисига қўрғошин ацетат эритмасидан 10 томчи, учинчисига эса аммоний сульфат тузидан тўйингунча солинади. Пробиркаларда чўкма ҳосил бўлиши кузатилади. Оч қолган ҳайвон жигари фильтрати билан ҳам худди шундай тажриба ўтказилади.

Олинган натижаларни расмийлаштириш. Тажриба натижалари қуйидаги жадвалга ёзилади. Тўқ ва оч қолдирилган ҳайвон жигари билан ўтказилган тажриба натижалари солиштирилади ва тегишли хулоса чиқарилади.

54-жадвал

Гликоген манбаи	Ишлатиладиган реактивлар		
	спирт	Қўрғошин ацетат	Аммоний сульфат
Тўқ ҳайвон жигари			
Оч қолган ҳайвон жигари			

Амалий машгулот № 18.

Мавзу: Углеводларнинг алмашинуви. Гликолизнинг аҳамияти. Глюкоза биосинтези. Гликолиз ва глюконеогенезнинг идора этилиши.

4. Мақсади: Талабаларга мускуллардаги лактатни (гликолизнинг охириги маҳсулоти) аниқлаш усуллари ургатиш. Талабаларни туқималардаги углеводларни аэроб ва анаэроб шароитлардаги алмашилиш усуллари билан таништириш. Бу жараёнларни организмнинг ҳаёт фаолиятидаги аҳамияти.

5. Вазифалар.

Машгулотлардан сунг талабалар билиши лозим:

- Аэроб ва анаэроб гликолиз реакциясини ва унинг физиологик аҳамиятини;
- Гликолиз реакциясини ва унинг физиологик аҳамиятини;
- Цитозолдаги водородни митохондрияга утиш механизмларини;
- Глюконеогенез реакцияларни;

- Гликолиз ва глюконеогенез асосий ферментларини ва уларнинг идора этилишини;

7. Машғулоти назарий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топширик. Аэроб гликолиз, унинг физиологик аҳамияти.
 - a) Аэроб гликолиз реакциялари.
 - b) Глюкозанинг аэроб йул билан парчаланишининг энергия манбаалари.
 - 2) 2-топширик. Цитозолдаги водородни митохондрияга утиш механизмлари.
 - a) НАДН₂нинг митохондрияга водородни моноксифат утишининг аҳамияти.
 - b) Водородни глицерофосфат ва малатаспартат утиш моки механизмлари ва организмнинг энергетик статусига қўшган ҳиссаси.
 - 3) 3-топширик. Анаэроб гликолиз, унинг аҳамияти. Гликогенолиз ва гликолизнинг узаро боғлиқлиги.
 - a) Анаэроб гликолиз реакциялари ва унинг аэроб гликолиздан фарқи.
 - b) Гликогенолиз ва гликолизнинг алоқаси.
 - c) Гликолиз ва гликогенолизнинг энергетик эффекти.
 - 4) 4-топширик. Глюконеогенез. Сут кислотасидан глюкозанинг ҳосил бўлиши. Кори цикли.
 - c) Глюконеогенезнинг реакциялари. Унинг гликолиз билан боғлиқлиги ва фарқи.
 - d) Гликолиз ва глюконеогенезнинг асосий ферментлари.
- III. Уқитувчининг машғулоти саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли уйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Мускул туқимасидаги анаэроб гликолиз.
- VI. Талабаларни машғулотидаги баҳоси.
- VII. Кейинги машғулоти мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши:

«Глюкозанинг мушак туқимасида қислородсиз шароитда оксидланиши (гликолиз)».

Глюкозанинг туқималарда қислородсиз шароитда оксидланиши гликолиз дейилади. Оксидланиш субстрати гликоген бўлса – гликогенолиз дейилади. Ушбу оксидланиш реакцияси тенгламаси қуйидагича:



Туқима ва аъзолар етарли даражада қислород билан таъминлана олмаган шароитда гликолиз ва гликогенолиз организмнинг физиологик вазифаларини бажаришга имкон яратади. Бундай жараён қупрок мушак туқималарида амалга ошгани учун гликолизни урганишда мушак туқималаридан фойдаланиш қулай.

Гликолиз жараёнида бир қанча оралик маҳсулотлар ҳосил бўлади. Жумладан, глюкозо-6-фосфат, фруктозо-1,6-дифосфат, фосфотриозалар, фосфоенолпируват, пируват ва охириги маҳсулот ҳисобланган сут кислота. Мушакларда гликолиз жараёни кетишини исботлаш учун мушак қиймаси

ферментлари таъсирида глюкозани ачитиб, ҳосил булган сут кислотани аниклаш мумкин.

Усулнинг асоси. Сут кислота сульфат кислота таъсирида сирка аъдегидга айлантририлгач, вератрол (пиракатехиннинг диметил эфири) билан узаро реакцияга кириб, рангли бирикма ҳосил килишидан иборат.

Иш тартиби. 1. Ачитиш учун эритма тайёрлаш. Текширув ва назорат тажриба пробиркаларига рН 8,0 булган фосфат буфер эритмасидан 3 мл ва глюкозанинг 1% ли эритмасидан 1 мл дан солиб аралаштирилади. Иккинчи пробиркага ферментатив реакцияни тухтатиш учун 1 мл 10%ли УХСК эритмаси солинади. Эритмалар устига мушак киймасидан 1 г солинади. Эритмалар аралаштирилади ва унинг кислород билан таъсирланишини чеклаш учун 10 томчи вазелин билан копланадида 37⁰С ли термостатга роса 1,5 соатга жойлаштирилади.

2. Оксилни чуқтириш. Пробиркалар термостатдан олинади ва реакцияни утказиш учун биринчи назорат эритмасига 1 мл 10%ли УХСК эритмаси солинади. Натижада оксиллар чуқмага тушади. Эритмалар бошка тоза пробиркага филтрланади.

3. Карбонсувларни чуқтириш. Оксилдан холи килинган карбонсув филтратига мис сульфатнинг ярим туйинтририлган эритмасидан 1 мл ва кальций гидроксид тузидан 0,5 г солинади. Пробиркалар копкок билан зич килиб беркитилади ва 15 дакика чайкатилади. Сунгра эритмалар хулланган филтр когоздан олиб ташланади.

4. Сут кислотани аниклаш. Филтрат солинган пробиркалар муз хоммомида совитилади ва унга аста-секин концентраланган сульфат кислота томизилади. Томизиш вақтида пробиркалар чайкатиб турилади. Аралашманинг исишига йул куймаслик керак. Сут кислотанинг оксидланишини тезлатиш учун пробиркалар кайнаб турган сув хаммомига 4 дакикага куйилади. Вақт утгач пробиркалар муз хаммомида совитилади. Совутилган аралашмага вератролнинг 0,1% ли спиртли эритмасидан 1-2 томчи солиб, бир неча дакика аста чайкатилади. Биринчи пробиркада мушак ферментлари таъсирида гликолиз реакцияси утганлигидан сут кислота тук пушти ранг ҳосил килади. Назорат пробиркада эса тажриба бошлангунча булган сут кислота оч пушти рангга киради.

Амалий машгулот № 19.

Мавзу: Углеводлар алмашинуви. Фруктоза ва галактоза алмашинуви. Пентозофосфат циклини ахамияти.

4. Мақсад:

- О-толуидин (моддаси) усули билан кондаги канд микдорини аниклашни талабаларга ургатиш
- Даволашни диагностика ва назорат килиш учун зарур булган фруктоза, галактоза, глюкозанинг метаболитик узгариши билан талабаларни таништириш

5. Вазифалар.

Машгулот утказилгандан сунг талабалар билиши керак:

- Фруктоза ва галактозани туқималарда айланиши йулларини;
- Фруктоземия ва галактоземия сабабларини;
- Пентозофосфат циклини реакциясини бошқарилишини ва гемолитик анемиянинг келиб чиқишини сабабини;
- Кондаги канд бошқарилишини ва кондаги канд микдорини О-толуидин усули билан аниқлашни;
- Гликопротеинлар ва протеогликанлар ҳақида тушунчага эга бўлиш.

6. Машгулотни назарий қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

1) 1-топшириқ. Фруктоза ва галактоза алмашинуви, наслий фруктоземия ва галактоземия.

а) Фруктоза манбаалари. Фруктозани айланиши реакцияси ва уларнинг катализловчи ферментлар. Фруктоземия пайдо бўлиши сабаблари.

б) Галактозанинг организмга тушиши. Галактозанинг организмда алмашинувининг йуллари. Галактоземия пайдо бўлишининг сабаблари.

2) 2-топшириқ. Глюкоза оксидланишининг пентозофосфат йули, аҳамияти.

а) Пентозофосфат цикли реакциялари. Организмда тарқалиши.

б) Пентозофосфат цикли метаболитларини аҳамияти. Гемолитик анемиянинг ҳосил бўлиши сабаблари.

3) 3-топшириқ. Конда канд микдорининг бошқарилиши.

а) Глюкозанинг организмда тупланиб бориши ва сафарбар этилиши.

б) Конда канднинг гормонал бошқарилиши.

4) 4-топшириқ. Гликопротеинлар ва протеогликанлар. Уларнинг углевод қисми ҳақида тушунча.

е) Хужайранинг фаолиятида гликопротеинлар ва протеогликанларнинг аҳамияти.

ф) Гликопротеин ва протеогликанларнинг углевод қисмининг аҳамияти.

III. Уқитувчининг машгулот саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.

IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли уйинлар, тестлар.

V. Амалий қисм. Лаборатория иши: О-толуидин билан кондаги канд микдорини рангли реакция орқали аниқлаш..

VI. Талабаларни машгулотдаги баҳоси.

VII. Кейинги машгулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши:

«Кондаги канд микдорини О-толуидин рангли реакцияси усули билан аниқлаш».

Текширилувчи материал: янги олинган кон.

Реактивлар: О-толуидин реактиви, УХСКнинг 3%ли эритмаси, глюкозанинг 5,5 моль/л ли доимий эритмаси. Ишчи эритма суюлтириш билан тайёрланади.

Керакли анжомлар: кимёвий идишлар, фильтр коғоз, центрифуга тазозиси, ФЭК, кюветалар ва зар коғоз.

Усулнинг асоси глюкозанинг сирка кислота иштирокида о-толуидин билан рангли эритма ҳосил қилиши ва унинг оптик зичлиги улчанишига асосланган. Рангнинг зичлиги глюкоза миқдорига тугри келади. Глюкозани аниқлаш учун кон оксиллардан тозаланиши керак. Ушбу усул билан факат ҳақиқий глюкоза миқдори аниқланади, чунки о-толуидин глюкозага ухшаш моддалар билан (глютатион, глюкурон, аскорбин кислоталар) рангли бирикма ҳосил қилмайди.

Иш тартиби. 1. Битта центрифуга пробиркаси ва иккита оддий пробиркага 1,8 мл 3% ли УХСК эритмаси солинади. Биринчи пробиркага 0,2 мл кон, иккинчисига 0,2 мл глюкозанинг доимий эритмаси, учинчисига 0,2 мл сув солиб аралаштирилади. Кон солинган пробиркага 10 дақиқа давомида дақиқасига 2500-3000 марта айланатиган центрифугада айлантдирилади. Чукма юкорисидаги суюклик бошқа пробиркага олинади. Оксил чукмасини филтрлаш ҳам мумкин. Шунингдек иккинчи ва учинчи пробиркалардаги суюклик ҳам тоза пробиркаларга олинади.

2. 0,5 мл оксилсиз суюклик солинган пробиркаларга 4,5 мл О-толуидин эритмаси солинади ва пробиркалар зар коғоз билан беркитилиб қайнаб турган сув ҳаммомига 8дақиқага жойлаштирилади. Қайнаш жараёнида эритмалар рангли тус олади. Бир оз вақт утгач пробиркалар сув ҳаммомидан олиниб, сув окимида совитилади. Кук рангли эритмалар 670 нм тулқин узунлигида фотоэлектроколориметрланади. 1 см калинликдаги кюветалар ишлатилади. Текширувчи эритма назорат эритма қаршисида қурилади. ФЭК курсаткичлари қуйидаги тенгламага қуйилиб, глюкоза миқдори топилади:

$$C_{\text{кон}} = C_{\text{доим}} \frac{E_{\text{кон}}}{E_{\text{доим}}}$$

$C_{\text{кон}}$ – кондаги канд миқдори ммоль/л бирлигида

$C_{\text{доим}}$ – доимий эритмадаги глюкоза миқдори

$E_{\text{кон}}$ – текширувчи (кон) эритманинг оптик зичлиги

$E_{\text{доим}}$ – доимий эритма зичлиги

Амалий машгулот № 21

Мавзу: Липидлар алмашинуви. Липидларнинг хазмланиши ва сурилиши.

4. Мақсад: Талабаларни организмда липидларнинг хазмланиши, сурилиши ва транспорти ҳақида тушунтириш.

5. Вазифа.

Машгулотдан сунг талабалар қуйидагиларни билишлари керак:

- Липидларнинг таркибини, ошқозон-ичак йулида хазмланиши, сурилиши, бу процессда утнинг аҳамиятини;

- Организмда ёғ кислотаси ва глицерин метаболизмини;
- Липидлар метаболизмида липопротеиннинг аҳамиятини.

6. Машғулоти назарий қисми.

I. Кириш. Мавзунинг аҳамиятини ёритиш.

II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

1) 1-топширик. Организмда ва овқатдаги асосий липидлар, организм учун липидларнинг аҳамияти.

а) Липидларнинг классификацияси, организмда липидларнинг манбаалари.

б) Ошқозон-ичак трактида липидларнинг хазм бўлиши. Утнинг аҳамияти.

с) Организмда липидларнинг функцияси.

2) 2-топширик. Ёғ кислоталарининг оксидланиши, регуляция.

а) Ёғ кислотаси шакллари.

б) Ёғ кислотасининг β -оксидланиш, энергетик эффекти.

3) 3-топширик. Глицериннинг оксидланиши.

а) Глицериннинг айланиши, аҳамияти.

4) 4-топширик. Хиломикрон ва липопротеинларни синтези ва уларни ёғ транспортида катнашиши.

а) Липопротеинларнинг турлари, таркиби;

б) Липидлар транспортида липопротеинларнинг аҳамияти.

III. Уқитувчининг машғулоти саволлари ҳақидаги қисқача тушунчаси.

IV. Вазиятли масалаларни ечиш, аҳамиятли уйинлар, тестлар.

V. Амалий қисм.

1. Лаборатория иши: Ут кислоталарнинг сифат реакцияси.

2. Лаборатория иши: Липазаларнинг активлигига утларнинг таъсири.

VI. Талабаларни машғулотидаги баҳоси.

VII. Кейинги машғулоти мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши:

«Ут кислоталарига сифат реакция».

Ишнинг бориши: 1. Сувнинг юза катламига ёғнинг таъсири. 1-2 мл сувли пробиркага олтингугурт қуқунидан бир чимдим сепилади – сувнинг юза қаватида қуқун сузиб юради. Бошқа пробиркадаги 1-2 мл сувга 5-10 томчи ут суюқлиги қушилади. Аралаштириб, олтингугурт қуқунидан бир чимдим сепилади. Қуқун чуқади. Бу шу билан асосланадиги, ут таркибидаги ут кислота тузлари сувнинг юзаки тортишишини камайтиради.

Ут эритмаси билан намланган қогоз филтрдан ёғнинг утиб сув билан намланган қогоз филтрдан ёғнинг ута олмаслиги нордон ут тузлари сувнинг юзаси тортишиш ва сувда қийин эрувчи баъзи бирикмаларнинг эритиш хусусиятига асосланган. Нордон ут тузларининг бу таъсири ёғларнинг ичакларда сурилишида ҳам аҳамиятга эга.

2. Ут кислота реакцияси (Петтенкофер реакцияси). Пробиркага 10-20 томчи концентрланган сульфат кислотаси қуйилади ва бошқа пробиркада тенг ҳажмдаги утга 1 томчи янгитайёрланган шакар аралашмасини қушилади.

Суюклик булинган чегарасида ут кислоталар чуқмаси ҳосил бўлади, кизгиш-бинафша халқа ҳосил бўлади. Юқорида узи кизиб кетмаслиги учун эҳтиётлик билан суюкликлар аралаштирганда суюклик олча ранг кизилга бўялади, ҳовода чайкатилганда тезгина иуқлашиб, пурпур рангга киради. Сульфат кислотасининг таъсири остида шакардан пайдо бўлувчи ут кислотаси билан оксиметилфурфуролнинг узаро таъсирида бўялишига асослангандир. Шакарнинг ортикча тушиши ва 70°C дан юқори киздиришдан сакланиш керак. Акс ҳолда кумирланиш ҳисобига тук бўялиш пайдо бўлади.

Лаборатория иши: «Ошқозон ости безига липазанинг таъсирини аниқлаш. Утнинг липаза активлигига таъсири».

Ёғлар ёки триацилглицеринлар овқат ҳазм трактида амалда сурилмайди. Ошқозон ости безида ишлаб чиқарилаётган липолитик ферментларнинг катализланиш ҳисобига ингичка ичакда уларнинг гидролизи кузатилади. Панкреатик липазаларнинг бир неча тури мавжуд. Улардан бири триацилглицериннинг а-жойлашуви эфир бирикмасига махсус ёндошиши бўлса, бошқалари эса В-жойлашувнинг бирикмаларини гидролизлайди. Триацилглицеринларнинг тулик гидролизи даврий кузатилади: аввал ферментлар а- ва а₁-бирикмаларига таъсир этади, сунг аста-секинлик билан В-моноацилглицеринларни гидролизлайди. Ҳазмнинг охириги махсулотлари (глицерин, юқори ёғ кислоталари, диацилглицеринлар ва моноглицеринлар) ичак деворига сурилади.

Липидларнинг ҳазм килиш ва сурилиш процессида ут кислоталари асосий уринни эгаллайди. Улар ёғларни эмулгирлаб, липазани активлайди ва ҳазмланишида эримайдиган махсулотларнинг сурилишини таъминлаб беради.

Липазанинг таъсирини кузатиш учун янги музлатилган ошқозон ости беzi ёки ундан тайёрланган глицеринни тортувчи липазалардан фойдаланилади. Липазанинг таъсирини урганиш учун липаза билан ёгдан аралашма тайёрланиб (сут ёки писта ёғи) аралаштирилади. Тажрибанинг бошидан ва оралик вақтда парчаланган ёгдан ҳосил бўлган ёғ кислоталарининг микдори аниқланади. Ёғ кислотасининг микдорини фенолфталеин иштирокида 0,01 моль/л (ишқор эритмасини) NaOHни титрлаш йули билан аниқланади.

Ишнинг бориши. 1. 3 та колба тайёрланада 2 та тажрибага 1 та контроль. Уларни липаза ва субстрат (сут ёки писта ёғи) жадвалда курсатилганидек аралаштирилади:

Инкубацион аралашмани таркиби	Тажриба учун синама, мл	Тажриба учун ут синамаси, мл	Контроль синама, мл
Сут (суюлтирилган 1:10), мл	10	10	10
Ошқозон ости безидаги глицеринли эритмаси, мл	1,0	1,0	1,0 (10 минут кайнатиш)
Ут эритмаси, мл	-	1,0	1,0
H ₂ O, мл	1,0	-	1,0

2. Тайёрланган инкубацион аралашмани яхшилаб аралаштирилади. Сунг хар бир колбадан титрлаш учун аввалдан тайёрланган стаканчаларга 2 мл дан эритма ажратиб олинади. Хар бир стаканчаларга 1-2 томчи фенолфталеин эритмаси кушилиб, натрий гидроксиди эритмаси билан оч пушти рангга киргунча титрланади.

3. Колбада колган аралашмани термостатга жойлаштирилиб, 38-40°C да ва маълум вақт оралигида (15, 30, 90 минут) ҳар бир колбани термостатдан олмай туриб, 2 мл дан аралашмаси ажратиб олинади ва 0,01 моль/л натрий гидроксиди эритмаси билан титрланади. Титрлаш вақти ва натрий гидроксиднинг сарфланган ҳажми жадвалда курсатилган.

Инкубация вақти минутда	NaOH 0,01 моль/л ли титрланган ҳажми (мл)		
	Утсиз тажриба синамаси	Утли тажриба синамаси	Текшириш
15			
30			
90			

Липазанинг таъсиридан олинган бирламчи титрлашнинг натижаси кейинги титрлашнинг натижасидан чиқарилади.

4. Олинган маълумотларга асосланиб график тузилади, абсцисса укига вақт (минутда), ордината укига – маълум вақт оралигида 0,01 моль/л ҳажмдаги натрий гидроксиднинг (миллитрда) ёғ кислотасининг нейтраллизацияси учун кетган липаза активлиги ёзилади. Липазалар активлигини ут иштирокида ва унинг иштирокисиз солиштирилади.

Амалий машғулоти № 22.

Мавзу: Липидларни оралик алмашинуви.

4. Мақсад: Талабаларни ёғларни алмашинуви йуллари ва уларни функциялари билан таништириш.

5. Вазифалар.

Машғулотдан сунг талабалар билиши керак:

- Ёғларни тупланиб бориши ва сафарбар этилиши йулларини;
- Ёғ кислоталарини биосинтез реакцияларни;
- Фосфолипидларни ва гликолипидларни, мембрана структуравий компонентларни ахамиятини.

6. Машғулоти назарий қисми.

I. Кириш қисмида мавзунинг ахамиятини ёритиш.

II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.

- 1) 1-топшиқ. Липидларни туқималарда тупланиб бориши ва сафарбар этилиши.
 - а) Ёғларни йигилиши манбаси, захирадаги ёғларнинг ахамияти.
 - б) Захирадаги липидларни сафарбар этилишини бошқарилиши.
- 2) 2-топшиқ. Ёғ кислоталар биосинтези.
 - а) Ёғ кислоталарини биосинтезининг реакциялари.
 - б) Шу процессни бошқарилиши. Глюкоза оксидланиши пентозофосфат циклининг ахамияти.

- 3) 3-топшириқ. Организмни асосий гликолипидлари ва фосфолипидлари, уларнинг функциялари.
- а) Фосфолипидларнинг тузилиши ва функцияси.
 - б) Гликолипидларнинг тузилиши ва функцияси.
- III. Уқитувчининг машгулот саволлари хақидаги кискача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, ахамиятли уйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Тухум саригидан лецитин ва кефалинни ажратиб олиш ва уларнинг таркибий қисмларига сифат реакциялари утказиш.
- VI. Талабаларни машгулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машгулот мавзусига тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Тухум саригидан лецитин ва кефалинни ажратиб олиш ва уларнинг таркибий қисмларига сифат реакциялари утказиш».

Фосфотидилхолин ва фосфотидилэтанолламинлар тухум саригидан спирт ёрдамида эритиб олинади. Сунг улар гидролизланади. Гидролизат таркибидаги махсулотлар сифат реакция ёрдамида аниқланади.

Иш тартиби. 1. Лецитин ва кефалинларни тухум саригидан ажратиш. Хавода қуритилган 1 г тухум сариги қайтар совитгич урнатилган пробиркага солинади. Унинг устига 5 мл этил спирти қуйиб 70-75⁰С гача иситилган сув хаммомига жойлаштирилади. Пробиркадаги суюқлик қайнагандан бошлаб, вақти-вақти билан 10 дақиқа давомида чайкатиб турилади. Бу жараёнда тухум сариги лецитинлари, кефалинлари ва қисман пигментлари эриган ҳолатга утади. Спиртли эритма сарик рангга буялади, тухум сариги эса рангсизланади (спиртнинг бугланган қисми тулдириб турилади). Яъни ҳажм бир меъёрга сакланади. Пробиркадаги эритма букланган коғоз фильтри орқали тоза пробиркага утказилади. Фильтрат тиник бўлиши керак.

2. Лецитин ва кефалинларни парчалаш (гидролизлаш) ҳамда уларнинг таркибий қисмларига сифат реакциялари утказиш 1-2 мл спиртли экстрактга шунча микдорда сульфат кислота эритмаси қуйиб, 10-15 дақиқа қайнаб турган сув хаммомида киздирилади. Лецитин таркибий қисмларга парчаланаяди. Бунда эркин холин, ёғ кислота, фосфат кислота ва глицерин ҳосил бўлады. Вакт утгач пробирка сув хаммомидан олиниб, совитилади. Унинг юзасида ёғ томчилари қалқиб юради. Булар ёғ кислоталардир.

а) гидролизат таркибидаги холинни аниқлаш учун шиша ойначага кичик гидролизат олинади ва устига калий йод эритмасида эритилган йоддан кичик томчи томизилади. Томчилар қоплагич ойнача билан қопланади. Микроскоп остида қунгир рангли холин кристаллари ҳосил бўлады.

б) қолган экстракт чинни қосачага солиниб, сув хаммомида буглатилади. Қолган қуруқ қисми қонцентраланган сирқа кислотанинг бир неча томчисида эритилади. Унинг устига темир (II) сульфат кристаллари қушилади. Эритмага 1 мл водород пероксид солиб, озгина киздирилади. Бунда фосфат кислота ажралади. Экстракт филтрланади. Фосфат кислотани аниқлаш учун бир томчи филтратга 1 мл қонцентраланган нитрат кислота ва ортиқча микдоридаги (5-6

мл) аммоний молибдатнинг нитрат кислотада тайёрланган эритмасидан солиб киздирилади. Бунда аммоний фосфомолибдатнинг сарик рангли чукмаси ҳосил бўлади.

Амалий машгулот № 23.

Мавзу: Фосфолипидлар ва стероидлар алмашинуви.

4. Мақсад: Талабаларни фосфо-, гликолипидлар, стеринлар метаболизми ва функциялари билан таништириш.

5. Вазифалар.

Дарс утилгандан кейин талабалар билишлари лозим:

- Фосфо- ва гликолипидлар биосинтезини;
- Фосфо- ва гликолипидлар катаболизмини;
- Холестерин функциялари ва ахамиятини;
- Холестерин биосинтезини;
- ЛХАТ ни холестерин алмашинувидаги ахамияти.

6. Машгулотни назарий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг ахамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топшириқ. Фосфо- ва гликолипидлар биосинтези ва катаболизми.
 - а) Асосий фосфолипидлар ва гликолипидлар, уларнинг функциялари.
 - б) Организмда фосфолипидлар ва гликолипидлар биосинтези. Бу жараёнда жигарнинг вазифаси.
 - с) Организмда фосфо- ва гликолипидларнинг катаболизми.
 - 2) 2-топшириқ. Стеринлар ва стеридлар. Холестерин ахамияти ва функциялари.
 - а) Стеринлар ва стеридларни ахамияти ва уларни функциялари.
 - б) Холестерин ахамияти ва функциялари.
 - 3) 3-топшириқ. Холестерин биосинтези, бошқарилиши.
 - 4) 4-топшириқ. Конда холестериннинг транспорти, ЛХАТ нинг ахамияти
 - а) Холестериннинг транспортида липопротеинларнинг ахамияти.
 - б) ЛХАТ – лецитин-холестеринацилтрансфераза ферментини ахамияти.
- III. Уқитувчининг машгулот саволлари хақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, ахамиятли уйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Илька усули бўйича умумий холестеринни концентрациясини аниқлаш.
- VI. Талабаларни машгулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машгулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Кон зардобы таркибидаги умумий холестеринни Илька усули билан аниқлаш».

Соглок одам кон зардобы таркибидаги умумий холестерин микдори 150-250 мл/дл – 200 мг/дл атрофида. Холестерин эфирлари ва ёғ кислоталар умумий холестериннинг 50-70 фоизини, эркин холестерин 30-40 фоизини ташкил қилади. Эркин холестериннинг эфирланган холестеринга бўлган нисбати доимий катталиқдир. Янги тугилган болаларда холестерин ва унинг боғланган

шакли кам микдорда булади. Бола усган сари бу курсаткичлар катталарникига якинлашади. Кон плазмаси таркибидаги холестерин микдорининг ортиши (гиперхолестеринемия) микседема, менингит, диабет, атеросклероз ва жигарнинг айрим касалликларида кузатилади. Оилавий гиперхолестеринемия ҳолатлари ҳақида ҳам маълумотлар бор.

Жадвал

Кон зардобидидаги ёғларнинг ёшга қараб ўзгариши

Ёғ фракциялари	Янги туғилган болаларда	Кичик ёшдаги болаларда	Катта ёшдаги болаларда
Умумий ёғлар г/л	2700-4700	4000-6000	4500-7000
Нейтрал ёғлар г/л	900-1500	1700	500-3000
Эркин ёғ кислоталар мэкв/л	1,2	0,6	0,6
Фосфотидларнинг фосфори г/л	30-50	50-75	65-900
Фосфатидлар г/л	750-1250	1250-1900	1600-2250
Лецитин г/л	600-1000	1000-1500	1300-1800
Умумий холестерин, мг	40-130	100-180	120-200
Холестерин эфири % ҳисобида	35-60	65	70
Эркин холестерин % ҳисобида	65-40	35	30
Холестерин фосфотидлар нисбати	0,7-1,0	тахминан 1,0	тахминан 1,0

Кон плазмасидаги холестерин микдорининг камайиши (гипохолестеринемия) сурункали юрак етишмовчилиги ҳолатларида, уткир юқумли касалликларда, уткир полиартиритларда ва гипертериеозларда кузатилади.

Усулнинг асоси. Холестерин сирқа ангидрид иштирокида сирқа ва сульфат аралашмалари билан рангли маҳсулот ҳосил қилади. Ранг зичлиги колориметрда ўлчанади.

Иш тартиби. Курук ва тоза пробирқага 2 мл ишчи реактив ва 0,1 мл гемолизланган кон зардобы солинади. Кон зардобы девор бўйлаб солиниши керак. Пробирқадаги суюқлик 10-12 марта чайқатилади ва 37⁰С ли термостатга 20 дақиқага жойлаштирилади.

Назорат тажрибасини тайёрлаш учун (битта гуруҳдаги талабалар учун 1-2 назорат тажриба етарли) курук пробирқага 2 мл ишчи реактив солинади. Колган иш тартиби юқоридагидек. Эритманинг ранг зичлиги назорат тажриба қаршисида, кизил нур филътр тулкин узунлигидаги ФЭК да қурилади.

Холестерин микдори ўлчов эгри қизигига биноан аниқланади.

Амалий машғулот № 24

Мавзу: Липид алмашинувини бошқарилиши ва бузилиши.

4. Мақсад: Ёғларнинг резервлаш ва мобилизациялаш механизми ва уни бошқарилишини урганиши. Липид алмашинувини бузилишини урганиш, гиперхолестеринемия ва уни атеросклероз ривожланишида аҳамияти, ут-тош касалликлари: уни ривожланиши биохимиявий асослари ва уни даволаш усуллари,

кетонемия, кетонурия, гиперлипидемия, семириш, сфинголипидоз.

5. Вазифалар.

Дарс утказилганидан сунг талабалар билиши лозим:

- Кон зардобидида умумий липидларни аниклаш.
- Кон зардобидида β -липопротеидларни аниклаш.
- Олинган лаборатория натижалари асосида диагноз куйишни урганиш.

6. Машгулотни назарий қисми.

- I. Кириш қисмида мавзунинг ахамиятини ёритиш.
- II. Саволларни таҳлил қилишга киришиш.
 - 1) 1-топшириқ. Ёгларни резервланиши ва мобилизацияси ва бу жараёни бошқарилиши.
 - 2) 2-топшириқ. Гиперхолестеринемия ва уни атеросклерозни ривожланишида ахамияти.
 - 3) 3-топшириқ. Ут-тош касаллиги. Ут-тош касаллигини ривожланишини биохимиявий асослари ва уни даволаш усуллари.
 - 4) 4-топшириқ. Кетонемия, кетонурия, гиперлипидемия, семириш, сфинголипидоз.
- III. Уқитувчининг машгулот саволлари хақидаги қисқача тушунчаси.
- IV. Вазиятли масалаларни ечиш, ахамиятли уйинлар, тестлар.
- V. Амалий қисм. Лаборатория иши: Кон зардобидида умумий липидларни аниклаш.
- VI. Талабаларни машгулотдаги баҳоси.
- VII. Кейинги машгулот мавзусини тушунтириш.

Лаборатория иши.

«Кон зардобидидаги умумий липидларнинг аниклаш усули» (Криницкий усули).

Текширилувчи материал: кон зардоби (музлатилган ҳолда 5-6ку сақланиши мумкин).

Реактивлар: концентрланган сульфат кислота, фосфорванилин аралашмаси (4 қисм концентрланган фосфор кислота ва 1 қисм 0,6%ли ванилан кислота).

Керакли анжомлар: Курук пробиркалар, пипеткалар, сув хаммоми, ФЭК, 0,5см калинликдаги кюветалар.

Баъзи касалликларда ёг алмашинувининг бузилишига хос булган хусусиятларни аниклашда ёгларнинг оралик маҳсулотлари микдорини урганиш ва билиш катта ахамиятга эга. Туқималарда учрайдиган барча ёг фракциялари конда ҳам булади. Қушимча лаборатория диагностикаси учун кон таркибидидаги умумий ёглар, триацилглицеридлар, ёг кислоталар, холестерин ва унинг эфирлари ва бошқа курсаткичлар аникланади.

Болаларнинг кон зардоби таркибидидаги ёглар катталарниқидан сифати ва микдори билан фарк қилади.

Жадвал

Кон зардобидидаги ёгларнинг ёшга қараб узғариши

Ёг фракциялари	Янги туғилган	Кичик ёшдаги	Катта ёшдаги
----------------	---------------	--------------	--------------

	болаларда	болаларда	болаларда
Умумий ёглар г/л	2700-4700	4000-6000	4500-7000
Нейтрал ёглар г/л	900-1500	1700	500-3000
Эркин ёг кислоталар мэкв/л	1,2	0,6	0,6
Фосфотидларнинг фосфори г/л	30-50	50-75	65-900
Фосфатидлар г/л	750-1250	1250-1900	1600-2250
Лецитин г/л	600-1000	1000-1500	1300-1800
Умумий холестерин, мг	40-130	100-180	120-200
Холестерин эфири % хисобида	35-60	65	70
Эркин холесерин % хисобида	65-40	35	30
Холестерин фосфотидлар нисбати	0,7-1,0	тахминан 1,0	тахминан 1,0

Катта ёшдаги соғлом одам кон зардобиди умумий ёг микдори 400-800 мг/дл орасида булади. Кон плазмасидаги ёглар асосан липопротеинлар курунишида (яъни оксиллар билан бириккан холда) учрайди. Кон зардобиди липопротеинлар микдорининг ортиши гиперлипопротеинемия дейилади. Гиперлипопротеинемия холати овкат истеъмол килингандан (4-5 соат утгач) кейин кузатилади. Бу физиологик холат (алиментар гиперлипопротеинемия) 12-16 соат утгач руй беради ва липопротеинларнинг уртача холатига етиши билан якунланади. Доимий гиперлипопротеинемия механик ва паренхиматоз сарик касаллигида, диабетда, буйрак касалликларида, ичкиликбозликда ва бошка касаликларда кузатилади. Ирсий гиперлипопротеинемия холатлар хам маълум. Кандли диабет касаллиги ёгнинг жигарга ташилиши билан боғлиқ.

Усулнинг асоси. Ёгларни аниклаш учун кон зардобига концентрланган сульфат кислота кушилади. Сульфат кислота ёгларни гидролизлайди. Парчаланишдан хосил булган махсулот сульфаниламид реактиви билан рангли бирикма хосил килади. Хосил булган ранг зичлигидан ёг микдори хисоблаб топилади. Ранг зичлиги коллориметрда улчанади.

Иш тартиби. Текширув ва назорат тажриба пробиркалари жадвалга биноан тайёрланади (бутун гурух учун битта назорат тажрибаси етарли булади). Сульфат кислота цилиндрда улчанади.

Пробиркалар	Кон зардобиди, мл	Дистилланган сув, мл	Сульфат кислота, мл
Текширув	0,1	-	5,0
Нazorat	-	0,1	5,0

1) Пробиркалардаги суюкликлар яхшилаб аралаштирилади ва гидролизлаш учун кайнаб турган сув хаммомига 10 дакикага жойлаштирилади. Тажриба пробиркалари оқиб турган сув тагида хона хароратигача совитилади. Сунгра 0,2 мл гидролизат курук пробиркага олинади ва устига 3 мл фосфорванилин аралашмасидан солиб аралаштириладида 45 дакика хона хароратида колдирилади.

2) Хосил булган рангли эритманинг зичлиги назорат эритмаси каршисида яшил нур фильтрида калориметрланади.

3) Ёгларнинг умумий микдори улчов эгри чизиги буйича хисобланади. Натижа бирлиги килиб 100 мл кон таркибидаги ёг микдори (мг/дл) олинади.