

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI
TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

BIOLOGIK KIMYO FANIDAN LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI
UCHUN O'QUV-USLUBIY QO'LLANMA

(3-kurs farmatsiyasi yo'nalishitalabalari uchun)

I QISM

Toshkent - 2016

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI

TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

“TASDIQLAYMAN”

**Toshkent farmatsevtika instituti
o'quv ishlari bo'yicha prorektori**

_____f.f.n. S.U.Aliev

“ ” _____2016 yil

№_____Bayonnoma.

.

**BIOLOGIK KIMYO FANIDAN LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI
UCHUN O`QUV-USLUBIY QO`LLANMA**

(3-kurs farmatsiyasi yo'nalishitalabalari uchun)

I QISM

Toshkent - 2016

Tuzuvchilar:

A.N.Maqsudova – Toshkent farmatsevtika instituti Toksikologik, organik va biologik kimyo kafedrası dotsenti, d.f.n.

A.A.Jo'rayeva – Toshkent farmatsevtika instituti Toksikologik, organik va biologik kimyo kafedrası dotsenti, d.f.n.

G.Yu.Malikova - Toshkent farmatsevtika instituti Toksikologik, organik va biologik kimyo kafedrası dotsenti, d.f.n.

Taqrizchilar:

M.M.Abdullaeva – O'zMU biologiya- tuproqshunoslik fakulteti, biologik kimyo kaferdrasi proffesori, b.f.d.

S.A. Saidov– Toshkent farmatsevtika instituti farmakologiya va klinik farmatsiya kafedrası mudiri, t.f.d.

O'quv-uslubiy qo'llanma Toshkent farmatsevtika institute Markaziy uslubiy kengashida tasdiqlandi.

2016 yil "23" fevral №7 Bayonnoma.

MUK raisi

X.S.Zaynutdinov.

Uslubiy qo'llanma Toshkent farmatsevtika institutining Ilmiy kengashida ko'rib chiqilgan va taasdiqlangan. 2016 yil "9" mart № 8 son bayonnomasi

Ilmiy kengash kotibi

V.Xaydarov

I-Mashg`ulot

Mavzu: Biologik kimyo faniga kirish. Aminokislotalarning tuzilishi va xossalari. Oqsillarning tuzilish darajalari.

O`quv mashg`ulotining maqsadi : Biologik suyuqlik va to`qimalardan oqsillarni ajratishni o`rganish. Oqsillar va aminokislotalarga xos rangli reaksiyalar o`tkazish. Aminokislotalarning tasnifi, oqsillarning qurilish darajalarini o`rganish.

***Amaliy mashg`ulot rejasi:*** Ma`ruzada olingan nazariy bilimlarni mustahkamlash.

1. Mushak to`qimasidan oqsillarni ajratib olish.
2. Sutdan kazeinni ajratib olish.
3. Oqsillar va aminokislotalarga xos rangli reaksiyalar:
 - a) Biuret reaksiyasi;
 - b) Ningidrin reaksiyasi;
 - c) Ksantoprotein reaksiyasi;
 - d) Fol reaksiyasi;
 - e) Shulze-Raspaylya reaksiyasi
4. Aminokislotalarning tasnifini klaster usulida ifodalash.

Dastlabki bilim darajasini aniqlash uchun savollar

1. Oqsil nima, uning molekulasini nimadan tuzilgan?
2. Oqsillarni to`qimalardan va biologik suyuqliklardan qanday ajratib olinadi?
3. Proteinogen aminokislotalarni sanab bering, oqsil tarkibida ular qanday bog` bilan bog`langan?
4. Aminokislotalar tasnifi nimaga asoslangan? Siklik, asiklik aminokislotalarga misollar keltiring.
5. α -aminokislotalar qanday reaksiya bilan ochiladi? Bu reaksiya nimaga asoslangan?
6. Oltingugurt tutuvchi aminokislotalar qurilishi va ularni ochuvchi Fol reaksiyasining mexanizmini yozib bering.
7. Aromatik aminokislotalar va ularni ochishdagi rangli reaksiyasi nimaga asoslangan.
8. Oqsil tarkibidagi aminokislotalarning qanday bog`lari Biuret reaksiyasini ifodalaydi?
9. Oqsildagi qaysi aminokislota qoldig`i ksantoprotein reaksiyasini ko`rsatadi? Bu aminokislota qanday ifodalaydi?

10. Millon reaksiyasidagi to'q qizil rang beruvchi aminokislotani yozib bering.
11. Oqsil tarkibidagi qaysi aminokislotani Adamkevich va Shulse-Raspayli reaksiyalari bilan ochish mumkin?
12. Keltirilgan rangli reaksiyalarning har biri oqsil uchun maxsusmi?
13. Oqsillarga xos rangli reaksiyalarning qanday ahamiyati bor?

Talabalarning mustaqil ishi

1-amaliy ish. Mushak to'qimalaridan

oqsillarni ajratish

Miofibrillalar - qisqaruvchi elementlar mushak hujayralari uchun xos birikmalardir. Ular miozin va aktin kabi qisqaruvchi oqsillar, tropomiozin va troponin kabi boshqaruvchi oqsillardan iborat. Miofibrill oqsillar suvda erimaydi, ammo bu oqsillarni 0,5 mol/l tuz eritmasi yordamida ajratib olish mumkin.

Sarkoplazmaning ko'pchilik oqsillari suvda yoki kuchsiz tuz eritmasida eriydi. Mushak to'qimalariga 5% li kaliy xlorid eritmasi ta'sir ettirilganda miofibrill va sarkopolazma oqsillari ajraladi.

Tekshiriluvchi material: 2 g maydalangan mushak to'qimasi.

Reaktivlar: kaliy xloridning 5% li eritmasi, natriy gidroksidning 0,1 mol/l eritmasi, uchxlorsirka kislota (UXSK)ning 10% li eritmasi.

Jihozlar: sentrifuga, sentrifuga tarozi, sentrifuga probirkalar, chinni hovoncha, shisha qum, oddiy probirka va shtativlar, shisha tayoqcha, pipetka, filtr qog'ozi, doka va voronkalar.

Ishning bajarilishi

1. 2 g mushak to'qimasini qaychi bilan maydalab, hovonchaga solinadi. Uning ustiga 2 ml 5% li kaliy xlorid eritmasi va shisha qum solib, ishqalanadi. So'ng 3 ml kaliy xlorid eritmasi solinib, 5 daqiqa ishqalash davom ettiriladi. Bunda aralashma bir xil holatga keladi, buni ekstrakt deyiladi.

2. Olingan aralashma ikkita sentrifuga probirkasiga solinadi, shisha qum hovonchada qoladi. Probirkalar sentrifuga tarozida pipetka orqali 5% li kaliy xlorid eritmasi qo'shish orqali bir xil og'irlikka keltiriladi. Gomogenat 15 daqiqa 4000 marta aylanadigan sentrifugada aylantiriladi. Bunda hujayra bo'lakchalari, parchalangan hujayralar, biriktiruvchi to'qima tolalari cho'kmaga tushadi. Cho'kma ustidagi suyuqlik toza probirkaga olinadi.

3. Olingan ekstrakt bilan oqsilga xos reaksiyalar o'tkaziladi.

2-amaliy ish. Sut oqsili - kazeinni ajratish

Sut tarkibida albumin, globulin va murakkab oqsil-fosfoproteidlar vakili bo'lgan kazein bor. Kazein sut oqsillarining 80% ini tashkil qiladi. Kazein nordon xossaga ega bo'lib, uning izoelektrik nuqtasi $pH = 6,7$ atrofida. Kazein kalsiy tuzlari bilan birikkan bo'lib, erigan holatda bo'ladi. Sut achiganda yoki u nordonlashtirilganda kazein ipir-ipir cho'kmaga tushadi.

Tekshiriluvchi material: sut.

Reaktivlar: xlorid kislotaning 1% li eritmasi, distillangan suv, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, nitrat kislotaning konsentrlangan eritmasi, molibden reaktivi, mis sulfatning 1% li eritmasi.

Jihozlar: 50 ml kimyoviy stakan, silindrlar, shisha tayoqcha, voronka, filtr qog'ozi.

Ishning bajarilishi

1. 50 ml kimyoviy stakanga 3 ml sut va 7 ml distillangan suv solinadi. Suyuqliklar aralashtirilib, ustiga 10-15 tomchi 1% li xlorid kislota eritmasi qo'shiladi. Kislota juda ehtiyotkorlik bilan tomchilab solinadi, chunki xlorid kislotaning ortiqcha miqdori kazein cho'kmasini eritib yuboradi. 3-5 daqiqa o'tgandan keyin ipir-ipir cho'kma hosil bo'ladi.

2. Xlorid kislotadan holi bo'lishi uchun stakanga 10 ml distillangan suv solib, 5 daqiqa qoldiriladi. So'ngra cho'kma ustidagi suyuqlik osoyishtalik bilan olib tashlanadi. Cho'kmaga yana bir marta distillangan suv solib, xlorid kislotaning ortiqcha qismi olib tashlanadi. Probirkadagi suyuqlik asta-sekin aralashtiriladi va 5 daqiqa o'tgach, aralashma qog'oz filtdan o'tkaziladi.

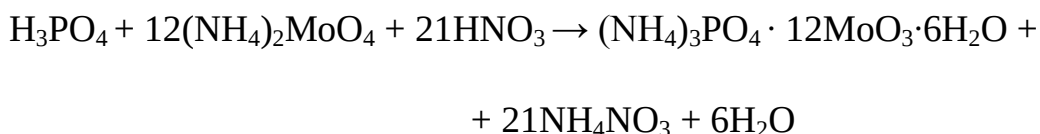
3. Kazein tarkibida fosfor borligiga ishonch hosil qilish uchun kazein ishkoriy muhitda parchalanadi, gidrolizat tarkibidagi fosfor molibden reaktivi yordamida aniqlanadi. Buning uchun filtdagi cho'kma qaytar muzlatgichli keng probirkaga olinadi va unga 6 ml 10% li natriy gidroksid eritmasi solinadi. Probirka

qum hammomida 1 soat davomida qizdiriladi. Suyuqlik sovutilgandan so'ng konsentrlangan nitrat kislota (20-30 tomchi) bilan lakmus bo'yicha kuchsiz nordon muhitgacha neytrallanadi. Neytrallash jarayonida oqsillarning chala parchalangan yuqori molekulali mahsuloti cho'kmaga tushadi.

4. Eritma tindirilgandan so'ng filtrlanadi. So'ngra suyuqlikdan olib, oqsilga xos Biuret va fosfor kislotaga xos molibden reaksiyasi o'tkaziladi.

a) 5 tomchi gidrolizatga 1-2 tomchi natriy gidroksidning 10% li eritmasidan va 2 tomchi mis (II) sulfat tuzining 1% li eritmasidan solinadi. Hosil bo'lgan binafsha rang oqsil borligini isbotlaydi.

b) 10 tomchi molibden reaktiviga 5 tomchi gidrolizat solib, bir necha daqiqa qaynatiladi. Eritma och sariq rangga bo'yaladi. Aralashma sovutilgach, sariq rangli kompleks birikma cho'kmaga tushadi. Bu fosfor kislota borligi isbotlaydi.



Olingan natijalar rasmiylashtiriladi.

3-amaliy ish. Biuret reaksiyasi

Oqsil tarkibida ketma-ket joylashgan aminokislotalarning birinchisidagi COOH va ikkinchisining NH₂ guruhlaridan suvni chiqib ketishi natijasida hosil bo'lgan peptid bog'ini - CO - NH kuchli ishqoriy muhitda mis sulfati bilan ko'kish-binafsha yoki qizil-binafsha rang berishiga asoslangan.

Biuret reaksiyasini hamma oqsillar, ularning to'liq bo'lmagan gidroliz unumlari – peptonlar, polipeptidlar va tarkibida kamida ikkita peptid bog'i bo'lgan peptidlar beradilar. Rangning to'qlik darajasi peptid zanjirining uzunligiga bog'liq.

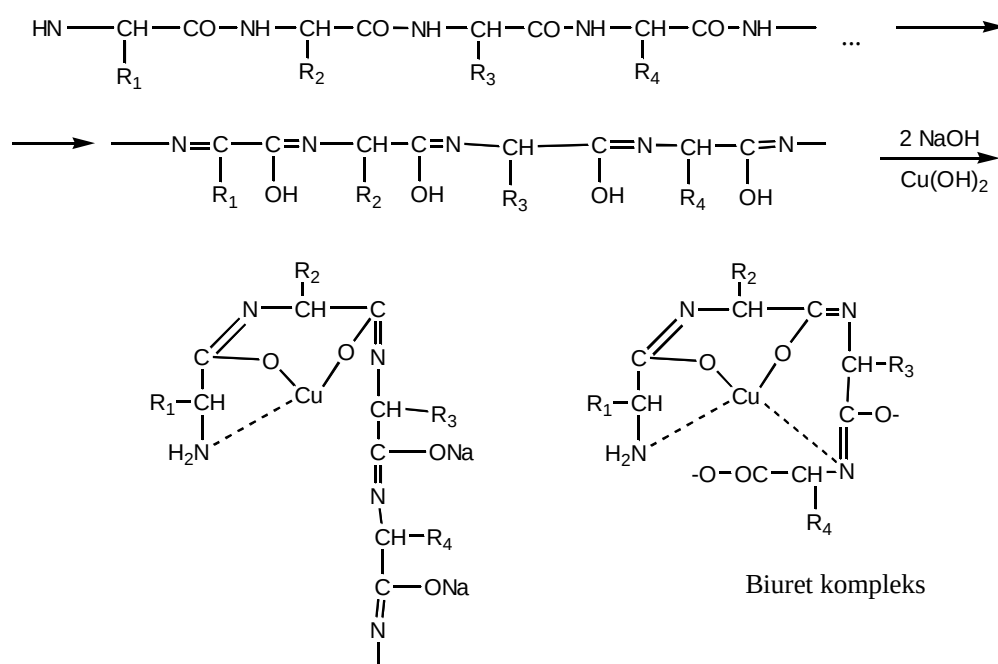
Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi (tayyorlanishi 1- ilovada), 1% li jelatina eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi.

Reaktivlar: Natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis sulfatning 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativlar, pipetkalar, tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5-10 tomchi tuxum oqsilining 1% li eritmasidan, ikkinchisiga 5-10 tomchi qon oqsilining 1% li eritmasidan, uchinchisiga 5-10 tomchi jelatinaning 1% li eritmasidan solinadi.
2. Barcha probirkalarga 10 tomchidan natriy gidroksidning 10% li eritmasidan va mis sulfatning 1% li eritmasidan 1 tomchidan tomizilib, aralashtiriladi.
3. Uchala probirkada qizil-binafsha yoki ko`kish-binafsha rang hosil bo`ladi.
4. Polipeptidlarning misli kompleksini sxematik ravishda quyidagicha tasvirlash mumkin:



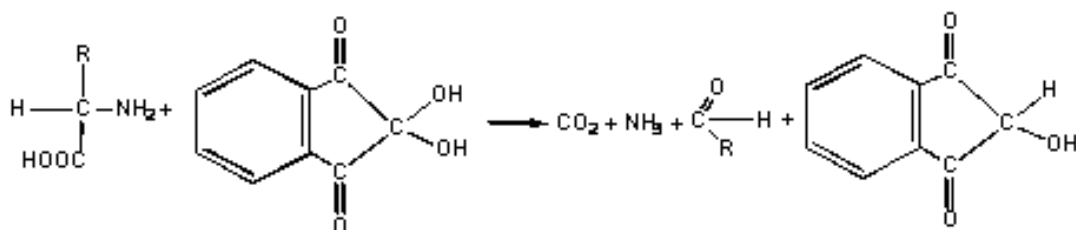
4-amaliy ish. Ningidrin reaksiyasi.

Ningidrin reaksiyasi aminokislotalarining α -holatida turgan aminoguruhlariga xosdir.

Ningidrin kuchli oksidlovchi modda - uning ta'sirida α -aminokislotalarning dezaminlanishi va dekarboksillanishi natijasida CO_2 , ammiak va aldegid hosil

bo`ladi. Qaytarilgan ningidrin ammiak va ortiqcha ningidrin bilan o`zaro reaksiyaga kirishib, ko`k-binafsha rangdagi kondensatsiyalangan unumini keltirib chiqaradi.

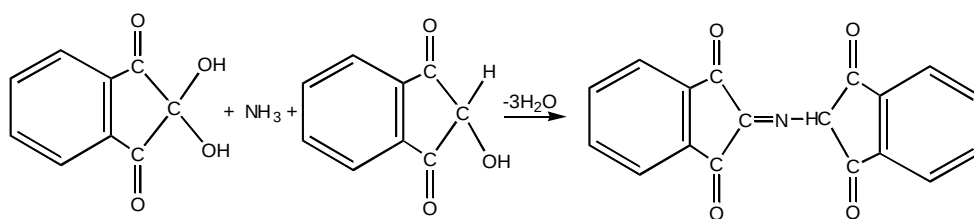
Reaksiya quyidagicha kechadi:



aminokislota

ningidrin

qaytarilgan ningidrin



kondensatsiyalangan

ko`kish-binafsha unumi

Tekshiriluvchi material: 1% li oqsil eritmasi, 1% li qon zardobi.

Reaktivlar: 0,1% li ningidrinning spirtli eritmasi, 1% li alanin eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativ, pipetkalar, tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi qon zardobi, uchinchisiga 5 tomchi alanin eritmasidan tomiziladi.

2. Har bir probirkaga 5 tomchidan 0,1% li ningidrin eritmasidan tomizilib, 1-2 daqiqa qizdiriladi.
3. Probirkalardagi aralashmalar avval pushti-binafsha yoki ko`kish-binafsha rangga bo`yaladi. Vaqt o`tishi bilan eritma ko`karadi.
4. Bu usul yordamida aminokislotalarni miqdor jihatdan ham aniqlash mumkin.

5-amaliy ish. Ksantoprotein reaksiyasi.

Tarkibida benzol halqali siklik aminokislotalar – tirozin triptofan tutgan ko`pchilik oqsil eritmalari konsentrlangan nitrat kislotasi bilan reaksiyaga kirishib, sariq yoki to`q sariq rang beradi. Bu reaksiya oqsil molekulasidagi aromatik aminokislotalarga xos bo`lib, ular nitrat kislota bilan o`zaro reaksiyaga kirishganda sariq rangli nitrobirikmalarni hosil qiladi. Agar unga ishqor qo`shilsa, to`q sariq rangli xinoid tuziga aylanadi. Bu reaksiyani triptofan bilan ham qaytarsa bo`ladi. Jelatina oqsili tarkibida aromatik aminokislotalar bo`lmaganligi sababli ksantoprotein reaksiyasiga kirishmaydi.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi, 1% li jelatina eritmasi.

Reaktivlar: Konsentrlangan nitrat kislotasi, natriy gidroksidning 20% li eritmasi yoki konsentrlangan ammiak.

Jihozlar: Probirkali shtativlar, pipetkalar.

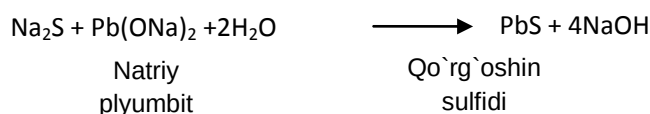
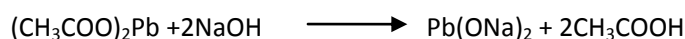
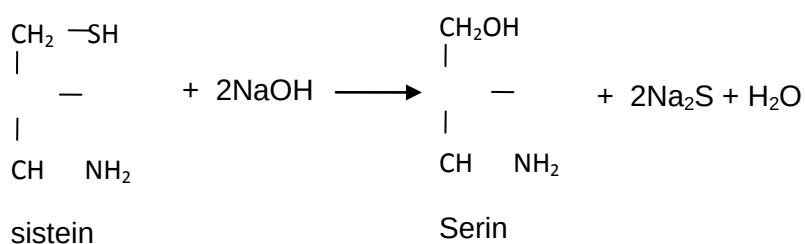
Ishning bajarilishi.

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml tuxum oqsili, ikkinchisiga 1 ml qon zardobi oqsili, uchinchisiga 1 ml jelatina quyiladi.
2. Barcha probirkalarga 0,5 ml dan konsentrlangan nitrat kislotasi qo`shiladi.
3. Probirkalar sekinlik bilan qizdirilsa, birinchi va ikkinchi probirkalarda sariq rang paydo bo`ladi. Uchinchi probirkada esa rang o`zgarmaydi.
4. Probirkalar sovutilib, har biriga konsentrlangan ammiak yoki 20% li natriy gidroksid eritmasidan 1 ml dan qo`shilganda dinitrotirozinni natriyli yoki

ammoniyli tuzi hosil bo'lganligi sababli probirkadagi sariq rang to'q sariq rangga aylanadi.

6-amaliy ish. Fol reaksiyasi.

Oqsildagi metionin, sistein va sistin ishqorda qizdirib, gidroliz qilinganda ular molekulasidagi oltingugurt bo'sh bog'langanligi sababli vodorod sulfidi shaklida oson ajralib, ishqoriy muhitda natriy yoki kaliy sulfidini hosil qiladi. Sulfidlar qo'rg'oshin atsetat bilan qo'shilib, qora rangli cho'kma beradi.



Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi, qon zardobi, 1% li jelatina eritmasi

Reaktivlar: 30% li natriy gidroksid eritmasi, 5% li qo'rg'oshin atsetat eritmasi, Fol reaktivi (tayyorlanishi 3-ilovada).

Jihozlar: Probirkali shtativ, pipetkalar, tomizgichlar.

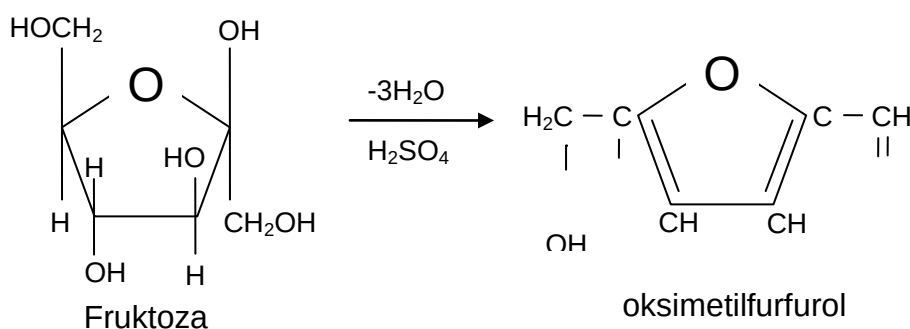
Ishning bajarilishi.

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml tuxum oqsili eritmasi, ikkinchisiga qon zardobi va uchinchisiga 1 ml jelatina eritmasidan quyiladi.
2. Barcha probirkalarga 30% li natriy gidroksid eritmasidan 1 ml dan qo'shib, 2-5 daqiqa davomida qizdiriladi.

3. Probirkalar sovutilgach, har biriga 0,5 ml 5% li qo`rg`oshin atsetat qo`shilganda birinchi va ikkinchi probirkalarda qora cho`kma hosil bo`ladi.
4. Uchinchi probirkadagi jelatina tarkibida oltingugurtli aminokislotalar yo`qligi uchun cho`kma hosil bo`lmaydi.

7-amaliy ish. Shulze-Raspaylya reaksiyasi

Bu reaksiya oqsil tarkibidagi triptofan qoldig`iga xos reaksiya bo`lib, bunda triptofan oksimetilfurfurol ta'sirida to`q qizil rangli kondensatsiyalangan unumini hosil qiladi. Oksimetilfurfurol mazkur reaksiyada saxarozaning konsentrlangan sulfat kislotasi ishtirokida parchalanishidan hosil bo`lgan geksoza (fruktoza) ni unumi hisoblanadi:



Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili yoki 1% li qon zardobi.

Reaktivlar: Saxarozaning 10% li eritmasi, 0,05% li triptofan eritmasi, muzli sirka kislotasi, konsentrlangan sulfat kislotasi.

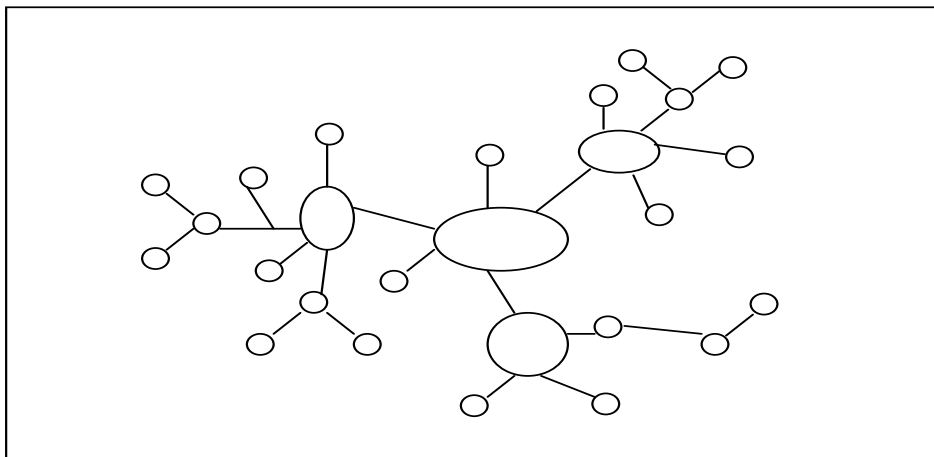
Jihozlar: Probirkali shtativ, pipetkalar, tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 5-10 tomchi 1% li tuxum oqsiliga yoki 5-10 tomchi 1% li qon zardobiga 1-2 tomchi 10% li saxaroza eritmasi va probirka devori bo`ylab ohistalik bilan 1 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi tomiziladi.
2. Probirka asta chayqatilib, ikkala suyuqlik aralashtiriladi.

3. Sulfat kislotasining erishi natijasida hosil bo'lgan issiqlik hisobiga ikkala suyuqlik qo'shilishidan to'q qizil rang paydo bo'ladi.

Aminokislotalarning tasnifini klaster usulida ifodalang.



1. Aminokislotalarning tasnifini bo'yicha mos sovol-javob juftligini tanlang:
1. Aminokislotalarning strukturasi bo'yicha tasnifi nimaga asoslangan?
 2.
 - + aminokislotalarning yon zanjirining tuzilishiga
 - aminokislotalarning kislota-ishqor xossasiga ko'ra
 - aminokislotalarning almashinmaslik darajasiga ko'ra
 - aminokislotalarning stereoizomeriyasi asosan
973. Aminokislotalarning elektrokimyoviy xossasi bo'yicha tasnifi nimaga asoslangan?
- + aminokislotalarning kislota-ishqor xossasiga ko'ra
 - aminokislotalarning yon zanjirining tuzilishiga
 - aminokislotalarning almashinmaslik darajasiga ko'ra
 - aminokislotalarning stereoizomeriyasi asosan
974. Aminokislotalarning biologik xossasi bo'yicha tasnifi nimaga asoslangan?
- + aminokislotalarning almashinmaslik darajasiga ko'ra
 - aminokislotalarning kislota-ishqor xossasiga ko'ra
 - aminokislotalarning yon zanjirining tuzilishiga
 - aminokislotalarning stereoizomeriyasi asosan
971. Quyidagi aminokislotalardan qaysilari proteinogen emas?
- + ornitin
 - fenilalanin
 - leysin
 - lizin
982. Alifatik aminokislotalarga quyidagi aminokislota kiradi:
- + leysin
 - fenilalanin
 - gistidin
 - prolin

983. Aromatik aminokislotalarga quyidagi aminokislota kiradi:

- + fenilalanin
- leysin
- gistidin
- prolin

984. Dikarbon aminokislotalarga quyidagi aminokislota kiradi:

- + glutamin kislota
- fenilalanin
- gistidin
- prolin

985. Serin yon zanjiriga ko`ra quyidagi guruhga kiradi:

- + gidroksiaminokislotalar
- tioaminokislotalar
- aromatik aminokislotalar
- diaminomonokarbonkislotalar

986. Almashinmaydigan aminokislotalarga kiradi:

- + metionin
- arginin
- prolin
- serin

II- Mashg`ulot

Mavzu: Oqsillarning tasnifi. Oddiy va murakkab oqsillar.

O`quv mashg`ulotining maqsadi : Oqsillarning tasnifi va tavsifini bilish. Oddiy va murakkab oqsillarning turlari, biologik vazifalari va xossalarini o`rganish. Oqsillarning fizik-kimyoviy xossalari va ularga ta'sir etuvchi omillarni o`rganish.

Amaliy mashg`ulot rejasi: Ma'ruzada olingan nazariy bilimlarni mustahkamlash.

- 1.Oqsillar dializi.
2. Oqsillarning eruvchanligi va tuz bilan cho`ktirish.
3. Oqsillarni cho`ktirish reaksiyalari.
- 4.Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash.
3. Oqsillar va aminokislotalar mavzusida tushunchalar tahlilini yozish.
4. Oqsillarning tasnifi bo'yicha klaster tuzish.

Dastlabki bilim darajasini aniqlash uchun savollar

1. Oddiy oqsillarning asoiy vakillarini sanang va ularning biologic funktsiyasi haqida to`xtaling.
2. Glikoproteidlar va proteoglikanlar. Tuzilishi va funktsiyasi.
3. Lipoproteidlar. Ularning qondagi asosiy vakillari.
4. Gemoglobinni strukturasi va funktsiyasi.
5. Oqsil denaturatsiyasi nima, bunda oqsilning qaysi xususiyatlari o`zgaradi?
6. Renaturatsiya va denaturatsiyada oqsilning qurilish darajalari holati qanday bo`ladi?
7. Oqsil dializi nimaga asoslangan, uning amaliyotda qanday ahamiyati bor?
8. Oqsil gidrolizida aminokislotalarning qanday bog`i buziladi?
9. Oqsil gidrolizini qanday xillari bor? Alanin, arginin, triptofan va metionindan tetrapeptid tuzib, nomini ayting.
10. Aminokislotalarning qaysi aminoguruhi peptid bog`i hosil bo`lishida ishtirok etadi? Arginil-glutamat va glutamil-arginin formulasini yozing.
11. Gidroliz tugaganligini qanday aniqlash mumkin?
12. Oqsilning makromolekulali tabiatini qanday isbotlash mumkin?
13. Oqsil gidrolizatidagi aminokislotalar aralashmasini qanday qilib taqsimlash mumkin?
14. Murakkab oqsillarning oddiy oqsillardan farqi nimada?

Talabalarining mustaqil ishi

8-amaliy ish. Oqsillar dializi.

Yuqori molekulali birikmalar kolloid eritmalarini yarim o`tkazuvchan membranalar yordamida past molekulali organik va anorganik aralashmalardan ajratishga dializ deb ataladi. Dializ davomida kolloid eritmalar membranadan osonlik bilan o`tuvchi, masalan, elektrolitlardan va boshqa kristalloidlardan

osonlik bilan tozalanadi. Shu xususiyati bilan dializ oqsil molekulalarini kichik molekulali qo'shimchalardan holi bo'lishida qulay usul hisoblanadi. Odam va hayvon organizmidagi ba'zi membranalardan oqsil molekulalari o'ta olmaydi (buyrakdagi Boumen-Shumlyanskiy kapsulasi, oshqozon-ichak yo'li epiteliysining shilliq pardasi va boshqalar).

Dializda ishlatiladigan asbob dializator deb ataladi. Oddiy dializator sifatida suvli stakanga tushirilgan kollodiy yoki sellofan xaltachasidan foydalansa bo'ladi. Bunda kichik molekulali moddalar suvga o'tib, xaltachada oqsilning kolloidli eritmasi qoladi.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi, 1% li qon zardobi.

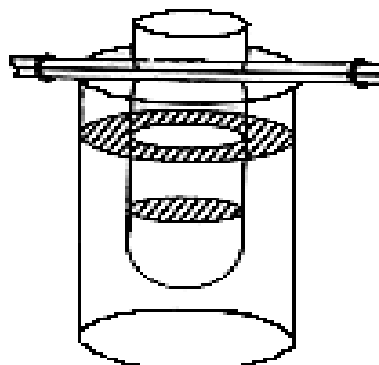
Reaktivlar: Ammoniy sulfat tuzining to'yingan eritmasi, bariy xloridining 5% li eritmasi, biuret reaktivi (mis sulfatning 1% li eritmasi bilan natriy gidroksidning 10% li eritmasi), distillangan suv.

Jihozlar: 100 ml hajmli stakan, 125x125 mm li sellofan, shisha tayoqcha, rezinali bog'lagichlar, probirkalar, pipetkalar.

Ishning bajarilishi.

1. 5 ml 1% li tuxum oqsili yoki 1% li qon zardobiga 1-2 tomchi ammoniy sulfat tuzi qo'shib, aralashtiriladi.
2. Ikkita probirkaga 10 tomchidan eritma olinib, bittasi bilan Biuret reaksiyasi, ikkinchisi bilan sulfat aniqlanadi.
3. Sulfatlarga tahlil o'tkazilayotganda probirkaga 2-3 tomchi bariy xlorid eritmasi qo'shiladi.
4. Sellofan xaltachaga (dializator)ning 1/3 hajmiga qadar tuxum oqsilining ammoniy sulfat aralashgan eritmasidan quyiladi.

5. Xaltacha yuqori qismidan ikkita shisha tayoqchali rezina xalqa yordamida tayyorlangan qisqichga maxkamlanib, distillangan suvli stakanga solib qo'yiladi, xaltachadagi suyuqlik sathi stakandagi suv sathidan pastroqda bo'lishi kerak.



6. Dializ boshlanishidan bir soat o'tgandan so'ng stakandagi suvdan (dializat) 10-15 tomchidan ikkita probirkaga olinadi. Birinchisi bilan oqsilga biuret reaksiyasi, ikkinchisiga 3-5 tomchi bariy xlorid qo'shib, sulfat ioniga sifat reaksiyasi o'tkaziladi.
7. Aynan shu reaksiyalar xaltacha ichidagi oqsil bilan ham qaytariladi, so'ngra dializat (tashqaridagi suyuqlik) va dializlanayotgan suyuqlikdan olib, oqsil va sulfatlarga xos reaksiyalar bajariladi, tuz tashqariga chiqqani va oqsil xaltachaning ichida qolganiga ishonch hosil qilinadi.

Mazkur usul oqsillar, nuklein kislotalar, polisaxaridlarni kichik molekulali qo'shimcha moddalardan tozalash bilan birga biokimyoviy tadqiqotlarda, oqsillardan davolash vositalari tayyorlashda, albuminlar va globulinlar fraksiyalarini ajratib olishda qo'llaniladi. Dializ usuli "sun'iy buyrak" apparatining ishlash asosi bo'lib, qonning tabiiy kichik molekulali zaharli moddalardan tozalashda foydalaniladi.

Olingan natijalar jadval ko'rinishida rasmiylashtiriladi. Xulosada dializ usuli oqsilni qaysi xususiyatini belgilashi va qo'llanilish imkoniyatlarini ko'rsating.

9 - amaliy ish. Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari.

10- amaliy ish. Oqsillarni eruvchanligi va tuz bilan cho'ktirish.

11 - amaliy ish. Oqsillarni izoelektrik nuqtasini aniqlash

Oqsil molekulalarining tarkibida erkin karboksil va amin guruhlar bo'lganligi uchun ular amfoterlik xossasiga ega, ya'ni ham asos, ham kislota sifatida dissosiasiyalanadi. Oqsil eritmasiga suyultirilgan kislota qo'shilsa, tarkibidagi kislotali guruhlarining dissosiasiyalanishi kamayadi. Demak, kislotali muhitda oqsil molekulalari musbat zaryadga ega bo'ladi va elektr maydonida katodga tomon harakat qiladi. Oqsil eritmasiga ishqor qo'shilganda esa ularning tarkibidagi asosli guruhlarining dissosiasiyalanishi kamayadi, demak, ishqoriy muhitda oqsillar ortiqcha manfiy zaryadga ega bo'ladi va elektr maydonida anodga tomon harakat qiladi.

Shunday qilib, pH ni o'zgartirish bilan oqsil molekulasini zaryadlarini o'zgartirish mumkin. Oqsil molekulasini tarkibidagi musbat va manfiy zaryadlar yig'indisi nolga teng bo'lgan muhit pH oqsillarning *izoelektrik nuqtasi* deb ataladi. Oqsillar izoelektrik nuqtada beqaror bo'ladi va osonlik bilan cho'kmaga tushadi.

Tekshiriluvchi material: jelatina yoki tuxum oqsilining 1% li eritmasi, kazeinning 0,4% li eritmasi.

Reaktivlar: natriy gidrofosfatning 0,2 M eritmasi, etil spirti yoki taninning 0,1% li eritmasi, natriy asetatning 0,2 M eritmasi, sirka kislotaning 0,1 n eritmasi, limon kislotaning 0,1 m eritmasi, sirka kislotaning 0,2 M eritmasi.

Jihazlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar, shisha tayoqchalar.

Ishning bajarilishi:

Tuxum albumini yoki jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash.

6 ta probirkaga jadvalda ko'rsatilgan miqdorda 0,2 M natriy asetat va 0,2 M asetat kislota eritmalaridan qo'yiladi. Hamma probirkada 1 ml dan bufer aralashma tayyor bo'ladi, uning ustiga 0,5 ml dan 1% li jelatina yoki tuxum albumini qo'shiladi. Eritmalar yaxshilab aralashtiriladi va 2 ml dan etil spirti yoki 1 ml dan 0,1% li tannin qo'shiladi. 5 daqiqa o'tgach, qaysi probirkada ko'proq loyqalanish

paydo bo'lgani belgilanadi. Qaysi probirkada loyqalanish eng ko'proq bo'lsa, jadvalga qarab shu probirkadagi suyuqlikning pH darajasi, shunga qarab tekshirilayotgan oqsilning izoelektrik nuqtasi aniqlanadi.

Jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Probir ka №	0,2 m CH ₃ COONa miqdori	0,2 m CN ₃ COOH miqdori	Aralashmaning pH darajasi	jelatina yoki tuxum albuminining miqdori	Etil spirti yoki tanin miqdori	Loyqala nish darajasi
1	0,1	0,9	3,8	0,5	1	
2	0,2	0,8	4,15	0,5	1	
3	0,5	0,5	4,75	0,5	1	
4	0,8	0,2	5,35	0,5	1	
5	0,9	0,1	5,7	0,5	1	
6	0,95	0,05	3,4	0,5	1	

Kazeinning izoelektrik nuqtasini aniqlash.

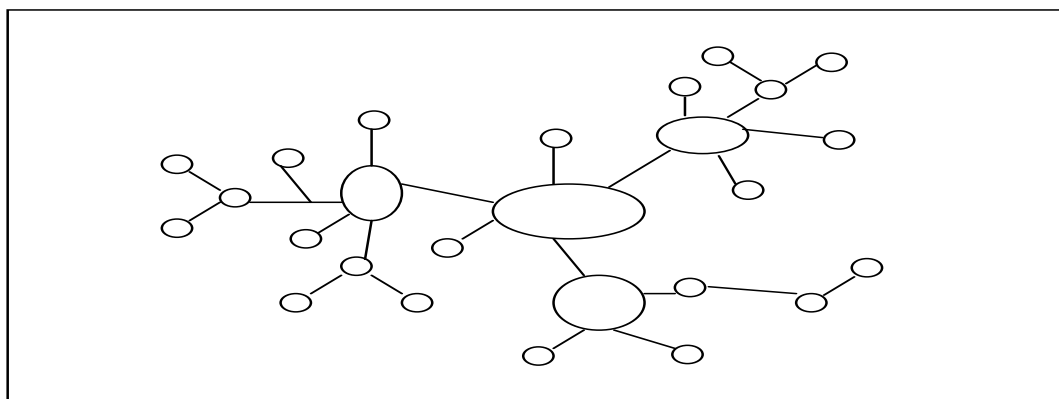
7 ta probirkaga 0,02 M sirka kislotasi va distillangan suv qo'yiladi. Hamma probirkaga 0,2 mldan natriy asetatning 0,2 m eritmasida eritilgan 0,4% li kazeindan qo'yiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Bu vaqtda hamma probirkalarda cho'kma hosil bo'ladi. Qaysi probirkaning pH ko'rsatkichi kazeinning izoelektrik nuqtasiga to'g'ri kelsa, shu probirkada loyqa ko'p bo'ladi.

Kazeinning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Probir ka №	0,2 m CH ₃ COONa miqdori	Suvning miqdori	0,2 m CH ₃ COONa dagi kazein miqdori miqdori	Aralashmaning pH darajasi	Loyqalan ish darajasi
----------------	---	--------------------	---	------------------------------	-----------------------------

1	1,6	0,4	0,2	3,8	
2	0,8	1,2	0,2	4,1	
3	0,4	1,6	0,2	4,4	
4	0,2	1,8	0,2	4,7	
5	0,1	1,9	0,2	5,0	
6	0,06	1,94	0,2	5,3	
7	0,03	1,97	0,2	5,6	

Oqsillarning tasnifi bo'yicha klaster tuzish



Oqsillar va aminokislotalar mavzusida tushunchalar tahlili

№	Tushunchalar	Mazmuni
1.	Oqsillar	
2.	Aminokislotalar	
3.	Peptid bog`	
4.	Globulyar oqsillar	
5.	Gemoglobin	
6.	Almashinmaydigan aminokislota	
7.	β- struktura	
8.	Albuminlar	

9.	Oddiy oqsillar	
10.	Denaturatsiya	
11.	Murakkab oqsillar	
12.	Dializ	
13.	Izoelektrik nuqta	
14.	Zichligi yuqori lipoproteidlar	
15.	Kazein	
16.	Katalitik oqsil	
17.	Tuzlanish	
18.	Triptofan	
19.	Xilomikron	
20.	Regulyator oqsil	
21.	Sentrifuga	
22.	Mioglobin	
18.	Metalloproteidlar	
19.	Fibrillar oqsil	
20.	Giston	

962. Oqsillar bu:

- + barcha javoblar to`g`ri
- aminokislotalardan tashkil topgan moddalar
- murakkab struktura tuzilishiga ega moddalar
- yuqori molekulali, tarkibida azot saqlovchi moddalar

963. Oqsillarning birlamchi qurilishi qanday ataladi?

- + aminokislotalardan iborat to`g`ri chiziqli polipeptid zanjir
- peptid guruhlari o`rtasida vodorod bog`lari hisobiga taxlangan qurilishi
- bir nechta polipeptid zanjirlarining birlashishidan tuzilgan oqsil molekulasi
- polipeptid zanjirining fazoviy qurilishi

964. Oqsillarning ikkilamchi qurilishi qanday ataladi?

- + peptid guruhlari o`rtasida vodorod bog`lari hisobiga taxlangan qurilishi
- aminokislotalardan iborat to`g`ri chiziqli polipeptid zanjir
- bir nechta polipeptid zanjirlarining birlashishidan tuzilgan oqsil molekulasi
- polipeptid zanjirining fazoviy qurilishi

965. Oqsillarning uchlamchi qurilishi qanday ataladi?

- + polipeptid zanjirining fazoviy qurilishi

- aminokislotalardan iborat to`g`ri chiziqli polipeptid zanjir
 - bir nechta polipeptid zanjirlarining birlashishidan tuzilgan oqsil molekulasi
 - peptid guruhlarini o`rtasida vodorod bog`lari hisobiga taxlangan qurilishi
966. Oqsillarning to`rtlamchi qurilishi qanday ataladi?
- + bir nechta polipeptid zanjirlarining birlashishidan tuzilgan oqsil molekulasi
 - aminokislotalardan iborat to`g`ri chiziqli polipeptid zanjir
 - peptid guruhlarini o`rtasida vodorod bog`lari hisobiga taxlangan qurilishi
 - polipeptid zanjirining fazoviy qurilishi
967. Aminokislotalar orasida peptid bog`lari hosil bo`lishida ishtirok etadi:
- + bir aminokislotalarning alfa - aminoguruhlari va boshqa aminokislotalarning alfa-karboksil guruhlarini
 - aminokislotalarning radikalidagi amino va karboksil guruhlarini
 - aminokislotalarning radikalidagi gidroksil va karboksil guruhlarini
 - aminokislotalarning gidrofob radikalini
968. Peptid bog`ining xossalari qanday bo`ladi?
- + barcha javoblar to`g`ri
 - ikki xil rezonans shaklda bo`lishi
 - -C-N- bog`lariga nisbatan qo`shimcha guruhlarining trans holatda bo`lishi
 - koplanarliligi
969. Oqsilning ikkilamchi qurilishi qaysi bog` hisobiga hosil bo`ladi :
- + vodorod bog`i
 - vandervals bog`i
 - peptid bog`i
 - disulfid bog`i
970. Uchlamchi qurilishni mustahkamlovchi bo`glarni ko`rsating.
- + barcha javoblar to`g`ri
 - izopeptid
 - ion
 - disulfid
975. Oqsillar qanday kolloid xossalarga ega?
- + barcha javoblar to`g`ri
 - diffuziyaning sekin borishi
 - eritmaning yuqori darajada yopishqoqligi
 - gel hosil qilishi
976. Oqsillarning erishi va eritmalaridagi turg`unligiga qaysi omillar ta`sir etadi?
- + barcha javoblar to`g`ri
 - muhit pH
 - harorat
 - neytral tuzlar
977. Dializ nima?
- + oqsillarni kichik molekulali moddalardan tozalash usuli
 - oqsillarni tozalash
 - oqsil molekulasiga sifat reaksiyasi
 - oqsil miqdorini aniqlash
978. β - kross struktura - β - shakl bu:
- + oqsilning ikkilamchi strukturalari

- oqsilning birlamchi strukturasi
 - oqsilning uchlamchi strukturasi
 - oqsilning to'rtlamchi strukturasi
979. Quyidagi aminokislotalardan qaysilari siyrak uchraydigan proteinogen aminokislotalarga kiradi?
- + gidroksiprolin
 - alanin
 - gistidin
 - sistein
980. Qaysi oqsil ammoniy sulfatning yarim to'yingan eritmasida cho'kmaga tushadi?
- + globulinlar
 - albuminlar
 - hamma oqsillar
 - glikoproteidlar
981. S gemoglobindagi molekulyar nuqsonni belgilang:
- + glutamin aminokislotasining valinga almashinishi
 - valinning glutamin kislotaga almashinishi
 - alfa zanjirning beta zanjirga almashinishi
 - beta zanjirni alfa zanjirga almashinishi
987. Izoelektrik nuqta nimani ifoda etadi?
- + aminokislotadagi turli xil guruhlarining kislota-ishqor xossasini
 - oqsil molekulasidagi azot ulushini
 - organizmdagi aminokislotalarning almashinmaslik darajasini
 - oqsil radikalining tuzilishini
988. Oqsillarga amfoterlikni nima beradi?
- + yon zanjirning kislota-ishqor guruhlari
 - yon zanjirning qutbsiz guruhlari
 - almashinmaydigan aminokislotalar
 - to'g'ri javob yo'q
989. Oqsillar qanday osmotik xossalarga ega?
- + molekulyar massasi yuqori bo'lganligi uchun yarim o'tkazgich membranadan o'ta olmaydi
 - diffuziyaning sekin borishi
 - eritmaning
 - gel hosil qilishi
990. Oqsilning eruvchanligi nimaga bog'liq?
- + suv molekulalarining oqsil bilan bog'lanib, gidratlanishiga
 - peptid bog'lariga
 - osmotik xossalariga
 - struktura tuzilishiga
991. Oqsillarning tuzlanishi nima?
- + oqsillarni neytral tuzlar ta'sirida cho'ktirish
 - oqsilning yarim o'tkazgich membranadan o'ta olmasligi
 - markazdan qochish kuchi ta'sirida sedimentatsiya tezligiga bo'g'liqligi
 - elektr maydonida oqsillarning harakatlanish
992. Oqsillarning denaturastiyasida:

- + biologik xossalari yo`qoladi
 - biologik xossalari saqlanadi
 - yuqori darajadagi tuzilishini saqlaydi
 - to`g`ri javob yo`q
993. Quyidagi oqsillarning qaysi biri tarkibida oqsil bo`lmagan komponent saqlamaydi?
- + albumin
 - gemoglobin
 - katalaza
 - mioglobin
994. Elektr maydoni ta'sirida oqsillarning ajratilishi nima deyiladi?
- + elektroforez
 - izoelektrik nuqta
 - tuzlanish
 - dializ
995. Yarim o`tkazgich membranadan oqsillarning o`tkazilishi asosida ularni tozalash usuli:
- + dializ
 - elektroforez
 - tuzlanish
 - izoelektrik nuqta
996. Qanday oqsillar gistonlar deb ataladi?
- + boshqaruvchi
 - tashuvchi
 - fermentativ
 - o`simlik oqsillari
997. Oqsillar qanday reaktivlar bilan cho`ktiriladi?
- + barcha javoblar to`g`ri
 - organik va mineral kislotalar
 - alkaloidli reaktivlar
 - organik erituvchilar
998. Qanday oqsillar protenoidlar deyiladi?
- + tayanch to`qima oqsillari
 - o`simlik oqsillari
 - nospesifik tashuvchi oqsillar
 - baliqlar spermatozoididagi nukleoprotaminlar tarkibidagi oqsillar
999. Qanday birikmalarga glikoproteidlar deyiladi?
- + uglevod-oqsil komplekslariga
 - lipid-oqsil komplekslariga
 - fosforillangan oqsillar
 - metallar bilan birikmalar
1000. Qaysi reaksiya peptid bog`i uchun xos?
- + biuret
 - ksantoprotein
 - Millon
 - Sakaguchi
1001. Oqsil tabiatli, fermentativ vazifani bajaruvchi moddani aniqlang.
- + sitoxromoksidaza

- transkordin
 - giston
 - immunoglobulin
1002. Oqsil tabiatli, gormon vazifasini bajaruvchi moddani aniqlang.
- + insulin
 - transkordin
 - sitoxromoksidaza
 - giston
1003. Oqsil tabiatli, tashuvchi vazifasini bajaruvchi moddani aniqlang.
- + transkordin
 - sitoxromoksidaza
 - giston
 - immunoglobulin
1004. Oqsil tabiatli, gen-boshqaruvchi vazifasini bajaruvchi moddani aniqlang
- + giston
 - transkordin
 - sitoxromoksidaza
 - immunoglobulin
1005. Oqsillar uchun xos bo`lgan muhim biologik vazifalarni aniqlang.
- + barcha javoblar to`g`ri
 - gormon
 - tashuvchi
 - immunologik
1006. Plazma lipoproteidlarining asosiy vazifasi qanday?
- + tashuvchi
 - fermentativ
 - immunologik
 - gormonal
1007. Fermentli gempoteidlarga mansub moddalar:
- + faqat sitoxromlar
 - faqat gemoglobin
 - gemoglobin, sitoxrom
 - mioglobin
1008. Gem tarkibiga kiradi:
- + metalloporfirinli kompleks
 - imidazol unumlari
 - aldoza
 - purin unumlari
1009. Transferrin qanday vazifa bajaradi?
- + temirni tashiydi
 - mis ionlarini bog`laydi
 - gormonni tashiydi
 - gemoglobinni tashiydi
1010. Gemoglobin nimadan tashkil topgan?
- + gem va to`rtta polipeptid zanjirdan
 - gem va ikkita polipeptid zanjirdan

- gem va bitta polipeptid zanjirdan
 - 4 ta gem va to'rtta oqsil zanjiridan
1011. Fosfoproteidlarda oqsil bilan prostetik guruh orasidagi bog'...
- + murakkab efir
 - disulfid
 - vodorod
 - O-glikozid
1012. Hamma alfa aminokislotalar qaysi reaksiyaga ijobiy natija beradi?
- + ningidrin
 - ksantoprotein
 - Fol
 - Millon
1013. Protamin va gistonlar uchun xos fizik-kimyoviy xossalari:
- + barcha javoblar
 - molekula massasining kichikligi
 - tarkibida diaminomonokarbon kislotalarning bo'lishi
 - izoelektrik nuqtasi ishqoriy muhitda
1014. Qon zardobi oqsilini fraktsiyalash usuli:
- + elektroforez
 - sentrifugalash
 - tuzlanish
 - denaturatsiya
1015. Tindal effekti bu –
- + oqsil eritmasiga yorug'lik nuri tushganda hosil bo'ladigan konus
 - ishqoriy metallar tuzlari bilan oqsillarni cho'ktirish
 - ionlarning elektr maydonida harakatlanishi
 - oqsillarning adsorbentda sorbsiya-desorbsiyasi
1016. Oqsilning izoelektrik nuqtasi nima?
- + oqsil elektroneytral bo'lgan pH qiymati
 - oqsil gidrofil xossasini yo'qotgan holati
 - oqsil elektr maydonida anodga harakatlanadigan vodorod ionlarining konsentratsiyasi
 - oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan cho'ktirish
1017. Oqsillarni kichik molekulali moddalardan ajratish qanday ataladi?
- + dializ
 - gidroliz
 - denaturatsiya
 - tuzlanish

III-Mashg'ulot

Mavzu: Fermentlarning struktura funktsional tuzilishi. Oddiy va murakkab fermentlar. Fermentlarning ta'sir etish mexanizmlari.

O`quv mashg`ulotining maqsadi : Fermentlarning tuzilishi, xossalari va funktsiyalari o`rganish. Fermentlarning struktura-funksional tuzilishi. Fermentlar ta'sir etishining molekulyar mexanizmlarini tahlil qilish.

Amaliy mashg`ulot rejasi: Ma'ruzada olingan nazariy bilimlarni mustahkamlash.

2. Anorganik katalizatorlar bilan fermentlar ta'sirini taqqoslash.
3. So'lak α -amilazasi faolligini Volgemut bo'yicha aniqlash.
4. Tirozinaza faolligini aniqlash.
5. Venna diagrammasidan foydalanib 1) anorganik katalizator; 2) fermentlarning va ularning umumiy xossalarini yozish.

Dastlabki bilim darajasini aniqlash uchun savollar

1. Ferment va ferment bo'lmagan anorganik katalizatorlarning o'xshashlik va farqlari nimalardan iborat?
2. Oddiy va murakkab fermentlarning o'ziga xos xususiyatlari.
3. Fermentlarning faol va allosterik markazlari qanday tuzilgan?
4. Kataliz jarayonida fermentlarning qaysi funktsional guruhlar ishtirok etadi?
5. Fermentlarning kofaktorlari deb nimaga aytiladi?
6. Vitaminli va vitamin bo'lmagan kofermentlarga qaysi kofermentlar kiradi?
7. Metall ionlari kofaktor sifatida qatnashi haqidagapiring.
8. Fermentlar ta'sir qilish mexanizmi nimaga asoslangan?
9. Fermentativ kataliz jarayoni necha bosqichdan iborat?

Talabalarning mustaqil ishi

12-amaliy ish. Kraxmalni xlorid kislota ta'sirida

gidrolizlash

Tekshiriluvchi material: kraxmal, so'lak.

Reaktivlar: 10% li xlorid kislota, Lyugol eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis (II) sulfatning 1% eritmasi, distillangan suv.

Jihhozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, suv hammomi, nay o'tkazilgan probka.

Ishning bajarilishi:

Probirkaga 2 ml 1% di kraxmal olib 1 ml 10% li xlorid kislota eritmasidan qo'shiladi. Probirka og'zi gaz o'tkazuvchi nay o'rnatilgan probka bilan berkitiladi va 10 daqiqa davomida ohista qaynatiladi. So'ngra 2 ta probirkaga 10 tomchidan gidrolizatdan quyib, birinchisiga 1-2 tomchi Lyugol eritmasi tomiziladi. Ikkinchisiga 10 ml 10% li natriy gidroksid, 5 tomchi 1% li mis sulfat eritmasi qo'shib qizdiriladi. Trimmer reaksiyasi natijasida probirkadagi suyuqlik ko'k rangga kirs, kraxmal gidrolizlanmagani, har ikkala probirkadagi suyuqlik sariq yoki qizil rangga kirishi kraxmal gidroliz bo'lganini bildiradi.

Kraxmalning fermentlar va kislotalar ta'sirida gidrolizlanishi

3 ta probirkaga kraxmalning 0,3% li natriy xlorid eritmasidagi 1% li eritmasidan 10 tomchidan quyib, birinchisiga 10 marta suyultirilgan so'lakdan 5 tomchi, ikkinchisiga 10% li xlorid kislota eritmasidan 5 tomchi, uchinchi probirkaga 5 tomchi suv (nazorat) quyib, uchala probirka 38°S li suv hammomida 10 daqiqa davomida isitiladi, so'ng probirkalardagi suyuqliklarni 2 ga bo'lib, bir qismi bilan kraxmalga yod ta'sir ettirish, ikkinchi qismi bilan Trommer reaksiyalari o'tkaziladi.

13-amaliy ish. So'lak α -amilazasi faolligini Volgemut bo'yicha aniqlash

Mazkur usul bilan α -amilaza miqdorini aniqlash fermentni maksimal darajada suyultirilganda ham tajribaga olingan kraxmalni eritrodekstringacha parchalay olish xususiyatiga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: 1: 10 nisbatda suyultirilgan so'lak.

Reaktivlar: Kraxmalning 1% li yangi tayyorlangan eritmasi, yodning kaliy yodiddagi eritmasi.

Jihhozlar: Probirkalar, tomizgichlar, pipetkalar, byuretkalar, shishaga yoziladigan qalam, 37°S li termostat yoki termometrli suv hammomi.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkadagi 1 ml so`lakka byuretkadan 9 ml distillangan suv 1: 10 nisbatda qo`shib, yaxshilab aralashtiriladi.
2. 10 ta raqamlangan probirkalar olinib, har biriga 1 ml dan suv solinadi.
3. Birinchi probirkaga 10 marotaba suyultirilgan so`lakdan 1 ml olib, yaxshilab aralashtirilgach, undan 1 ml olib ikkinchi probirkaga o`tkaziladi, aralashtirilgach, aralashmani 1 ml ni uchinchi probirkaga, shu tartibda bajarilayotgan ish to`rtinchi, beshinchi, toki o`ninchi probirkagacha takrorlanadi va oxirgi probirkadan 1 ml suyuqlik olib tashlanadi.
4. Natijada birinchi probirkadagi so`lak 10 marta suyuladi, ikkinchisidagi 40 marta, uchinchi 80 marta va hokazo, o`ninchi esa 5440 marotaba suyulgan hisoblanadi.
5. Barcha probirkalarga ferment konsentratsiyasi eng kam bo`lgan o`ninchi probirkadan boshlab 2 ml dan 1% li kraxmal eritmasi quyiladi va chayqatilib, aralashtirilgach, 30 daqiqaga 37°S li termostatga qo`yiladi.
6. 30 daqiqadan so`ng probirkalar sovutilib, har biriga 1-2 tomchidan yodning kaliy yodiddagi eritmasidan tomiziladi va eng ko`p suyultirilgan probirkadagi so`lak kraxmalni eritrodekstringa parchalab, yod bilan qizg`ish-qo`ng`ir rang hosil qilganligi aniqlanadi.
7. α -amilaza faolligi 1 ml suyultirilmagan so`lakni 37°S da termostatda 30 daqiqa davomida necha millilitr 1% li kraxmalni parchalay oladigan miqdori bilan o`lchanadi. Agar qizg`ish-qo`ng`ir rang so`lak 160 marotaba suyultirilgan to`rtinchi probirkada 2 ml 0,1% kraxmal eritmasi qo`shilganda aniqlansa, unda 1 ml suyultirilmagan so`lak 160 marotaba ko`p 0,1% li kraxmalni parchalagan bo`ladi: 1/160 ml so`lak 2 ml 0,1% kraxmalni parchalasa, 1 ml so`lak 0,1% li kraxmalning qancha miqdorini (X) parchalashi mumkin, ya`ni $X=2 \times 1: 1/160 = 320$ ml 0,1% li kraxmal eritmasini parchalaydi. Shartli ravishda ushbu ko`rsatkich Volgemut bo`yicha 320 ml α -amilaza birligi hisoblanadi va quyidagicha yoziladi: A 37°S/ 30' =320 birlik.

Volgemut usulidan α -amilazani oshqozon osti bezi shirasida, qonda, siydikda va organizmning boshqa suyuqliklarida aniqlashda foydalanish mumkin.

Ammo mazkur usul nisbatan taxminiy bo'lganligi sababli α -amilaza faolligida keskin o'zgarishlar kuzatilganda qo'llaniladi.

Amaliy ishdan olingan natijalarni quyidagi ko'rinishga keltiring.

Volgemut usuli bo'yicha α -amilaza faolligini so'lakda aniqlash

№ Probirkalar	So'lakni suyultirish darajasi	0,1 % li kraxmal eritmasi miqdori (ml)	Harorat	Yod bilan boradigan reaktsiyasining rangi

Xulosada tekshirilayotgan so'lakdagi amilaza faolligini hisoblangan miqdorini bering.

14-amaliy ish. Tirozinaza faolligini aniqlash.

1-guruh

Berilgan ma'lumotlar. Fermentlar anorganik katalizatorlardan bir qancha xossalari bilan farq qiladi. Fermentlar yuqori darajada o'ziga xos biologik katalizatorlardir. Ular yumshoq sharoitda (kuchsiz kislotali, neytral yoki kuchsiz ishqoriy muhit, ion kuchi past bo'lgan eritmalarda, normal atmosfera bosimi sharoitida) yuqori faollikni namoyon qiladi.

Topshiriqlar.

1. Anorganik va biologik katalizatorlarning faolligini kraxmalning gidrolizlanishi misolida tushuntiring.
2. Reaktsiyaning faollanish energiyasi va unga fermentning ta'siri.
3. Fermentlar ta'sirining molekulyar mexanizmlarini qanday tushunasiz?.

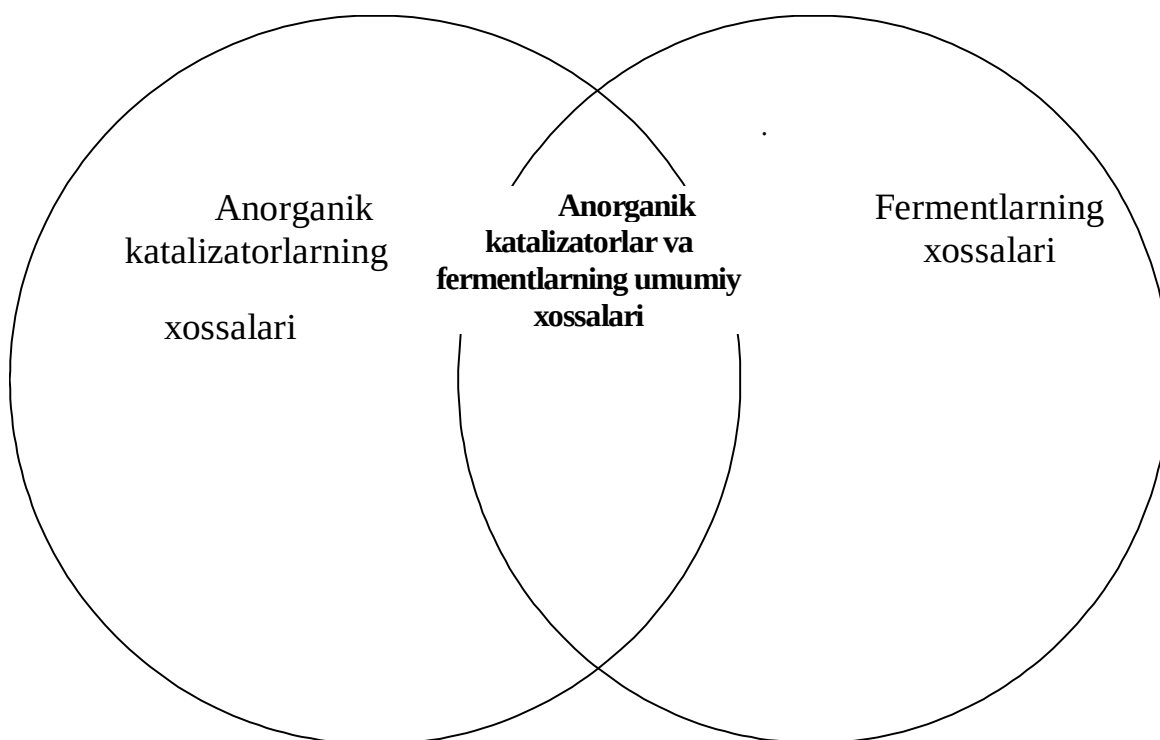
2- guruh

Berilgan ma'lumotlar. Fermentlar faolligiga ferment va substratning konsentratsiyasidan tashqari harorat, vodorod ionlari, aktivator va paralizatorlar ham ta'sir etadi.

Fermentativ jarayonlar 70°C dan yuqori haroratda davom etmaydi va ularning katalitik xossalari yo'qoladi. Har qanday reaksiya singari fermentativ reaksiya tezligi ma'lum darajagacha oshadi. Fermentlar uchun optimal harorat $25-37^{\circ}\text{C}$ oralig'i hisoblanadi.

1. Yuqoridagi ma'lumotlardan kelib chiqib, fermentlarning reaksiya tezligiga haroratning ta'sirini fermentning qanday xossalari bilan bog'liqligini ayting.
2. Fermentlarning ta'sir qilish mexanizmini Mixaelis-Menten tasavvuri bo'yicha tushuntirib bering.
3. Fermentlar ta'sir qilishi to'g'risidagi farazlar va ularning kamchiliklari to'g'risida sizning fikringiz?

Venna diagrammasidan foydalanib 1) anorganik katalizator; 2) fermentlarning va ularning umumiy xossalarini yozing.



IV-Mashg`ulot

Mavzu: Fermentativ reaksiyalar kinetikasi. Fermentlar faolligini boshqarilishi.

O`quv mashg`ulotining maqsadi : Fermentativ reaksiya kinetikasini ferment va substrat konsentratsiyasiga, ferment miqdori, muhit pH, haroratga bog`liqligini o`rganish. Fermentlar ta`sirining o`ziga xosligini bilish. Fermentlar faolligini boshqarishni tibbiyotdagi ahamiyatini bilish;

**Amaliy mashg`ulot rejasi:** Ma`ruzada olingan nazariy bilimlarni mustahkamlash.

1. Ferment faolligiga ta`sir etuvchi omillar:
 - a) So`lak α -amilazasining termolabilligi aniqlash;
 - b) So`lak α -amilazasining spesifikligini aniqlash;
 - v) So`lak  $\alpha$ -amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorlarning ta`sirini aniqlash;
2. Bahs-munozara usulini qo`llash.
3. Fermentlar mavzusida tushunchalar tahlilini yozish.

Dastlabki bilim darajasini aniqlash uchun savollar

1. Qanday moddalarga fermentlar deyiladi? Organizmda ular qanday vazifani bajaradi?
2. Fermentlarning kimyoviy tabiati va xususiyati nimadan iborat?
3. Ferment ta`sirining spesifikligi nimada va uni qanday aniqlanadi?
4. Ferment faolligini haroratga, muhit pH iga qanday bog`liqligi bor?
5. Fermentning prostetik guruhi bilan kofermenti o`rtasida qanday farq bor?
6. Fermentning faol markazini qanday tushunasiz?
7. Fermentlar klassifikasiyasi qanday, ferment sinflarini sanab bering.
8. So`lak amilazasi fermentlarning qaysi sinfiga kiradi?
9. Qanday birikmalar so`lak amilazasi substrati bo`la oladi?
10. Maltoza qaysi xususiyati asosida Trommer reaksiyasi bilan ochiladi?

11. Fermentlar eritmasini qaynatganda inaktivasiyalanishi nima bilan tushuntiriladi va bunga qanday ishonch hosil qilish mumkin?
12. Fermentlar ta'siri anorganik katalizatorlar ta'siridan qaysi xususiyatlari bilan farqlanadi?
13. So'lak amilazasi ta'siridagi spesifiklikni qanday qilib isbotlasa bo'ladi?
14. Saxaraza fermenti qaysi sinfga kiradi va uning substrati nimadan iborat?
15. Saxaraza ta'siridagi spesifiklik qaysi reaksiya bilan isbotlanadi?
Saxarozani saxaraza bilan gidrolizlanish reaksiyasi formulasini yozing.
16. Nega saxaroza gidrolizgacha Trommer reaksiyasi bilan ochilmaydi?
17. Muhit pH ning ahamiyatini so'lak amilazasiga ta'siri misolida tushuntiring.
Qaysi tajribada uni ko'rish mumkin?
18. Qanday moddalar fermentlarning aktivatorlari va ingibitorlari bo'lishi mumkin? Ulardan α -amilaza uchun misollar keltiring.

15-amaliy ish. So'lak α -amilazasining termolabiligi

Fermentativ reaksiyaning tezligi haroratni ko'tarilishi bilan barobar orta boshlaydi. Harorat 10°S ga oshsa, reaksiya tezligi 2-3 marta ko'payadi. Ammo fermentativ katalizning faollashish ko'rsatkichi anorganik kimyoviy reaksiyalardan haroratni nihoyatda tor oralig'ida kechishi bilan farqlanadi. Reaksiyani maksimal tezligini ta'minlovchi harorat chegarasini optimal harorat deb atalib, u $37-40^{\circ}\text{S}$ ga to'g'ri keladi. Bu ko'rsatkich $40-50^{\circ}\text{S}$ ga yaqinlashganda ko'pchilik fermentativ jarayonlarning tezligi pasaya boshlaydi, $80-100^{\circ}\text{S}$ da esa bir necha daqiqa davomida butunlay yo'qoladi. Buning sababi fermentning oqsil molekulasini issiqlik denaturatsiyasi natijasida katalitik faolligini yo'qotilishi bilan tushuntiriladi. Qaynatganda fermentni inaktivasiyalanishini so'lak α -amilazasi misolida ko'rish mumkin.

Tekshiriluvchi material: suyultirilgan so'lak .

Reaktivlar: Kraxmalning yangi tayyorlangan 1% li eritmasi, yodning kaliy yodiddagi eritmasi, o'yuvchi natriyning 10% li eritmasi, mis sulfatining 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar, pipetkalar, termostat yoki termometrli suv hammomi, shisha tayoqchalar, tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 2 ml ga yaqin suyultirilgan so'lakdan solinib, 2-3 daqiqa davomida qaynatiladi va sovutiladi.
2. Ikkita probirkaga 10 tomchidan 1% li kraxmal eritmasi qo'yilib, birinchisiga 10 tomchi suyultirilgan so'lak, ikkinchisiga 10 tomchi qaynatilib sovutilgan so'lakdan tomiziladi.
3. Probirkalar ichidagilari aralashtirilib, 10 daqiqaga 37°S li termostatga qo'yiladi.
4. So'ngra har bir probirka suyuqligidan 3-5 tomchidan olinib, oldindan 1-2 tomchi yod quyib tayyorlangan probirkalarga tomiziladi. Bunda qaynatilmagan so'lakli probirkadagi namuna yod bilan bo'yalgan rang bermaydi, qaynatilgan so'lak saqlagan probirkada zangori rang kuzatiladi.
5. Ikkala probirkada qolgan suyuqliklardagi kraxmalga Trommer reaksiyasi o'tkazilganda, qaynatilmagan so'lakli namunada ijobiy va oldindan qaynatilgan so'lak ta'sirida esa manfiy reaksiya kuzatilgan.

Olingan natijalar jadvalda keltirilib, xulosada yuqori haroratning α -amilazani gidrolitik faolligiga ta'siri, uning sababi va isbotini ko'rsating.

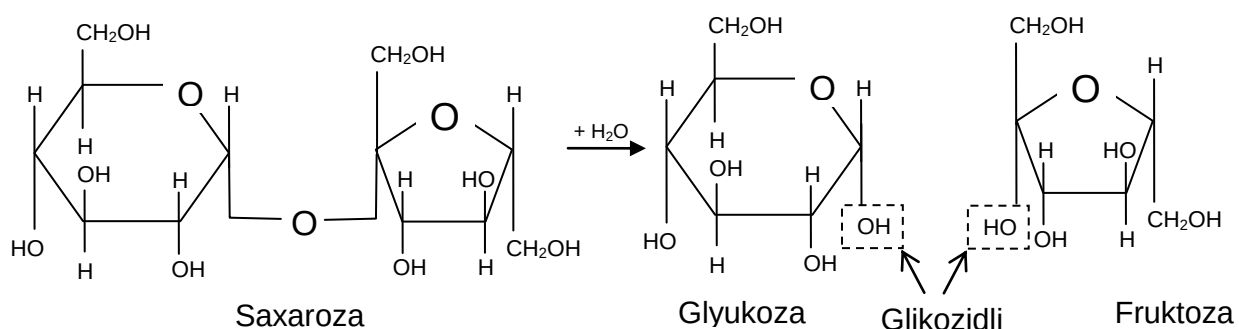
α -amilaza fermentiga haroratning ta'siri

Ferment	Substrat	Gidrolizatda kraxmal bor yoki yo'qligi	Trommer reaksiyasi
α -amilaza			
Qaynatilgan amilaza			

16- amaliy ish. So`lak α -amilazasining spesifikligi

Polisaxaridlar – glikogen va kraxmal amilazaning spesifik substrati hisoblanadi. Saxarazaning substrati esa – disaxarid saxaroza bo`lib, tarkibidagi glyukoza va fruktoza qoldiqlari diglikozid bog`i bilan bog`langanligi tufayli erkin aldegid yoki keton guruhi yo`q va shu sababli Trommer reaksiyasini bermaydi.

Saxaroza gidrolizlanganda glyukozani bo`shatilgan aldegid guruhi bilan fruktozaning keton guruhi ijobiy Trommer reaksiyasini kelib chiqishini asoslaydi. Shuning uchun Trommer reaksiyasi yordamida saxarozani gidrolizga uchragan yoki uchramaganligini aniqlash mumkin. Fermentlar ta`sirining spesifikligini o`rganishda achitqi tarkibidagi saxarozadan foydalaniladi.



Tekshiriluvchi material: suyultirilgan so`lak

Reaktivlar: Saxaroza manbai sifatida quritilib maydalangan achitqining 20% li filtrlangan eritmasidan foydalaniladi, kraxmalning yangi tayyorlangan 1% li eritmasi, saxarozaning 2% li eritmasi, o`yuvchi natriyning 10% li eritmasi, mis sulfatining 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar, pipetkalar, termostat yoki termometrli suv hammomi.

Ishning bajarilishi.

1. Saxaroza eritmasi bilan Trommer reaksiyasi o`tkazilib, uni manfiy ekanligiga ishonch hosil qilinadi.

2. Ikkita probirka olinib, bittasiga 10 tomchi 1% li kraxmal eritmasi, ikkinchisiga 10 tomchi 2% li saxaroza eritmasi solinadi. Ikkala probirkaga 5 tomchidan suyultirilgan so`lak qo`shib, aralashtiriladi va 10-15 daqiqaga 37°S li termostatga qo`yiladi.
3. 10-15 daqiqadan so`ng ikkala probirka tarkibidagi suyuqliklar bilan Trommer reaksiyasi o`tkaziladi.
4. Substrat sifatida kraxmal saqlagan probirkaga mis gidrat oksidi qo`shilganda uni qaytarilgani kuzatiladi, bu esa kraxmalni α -amilaza ishtirokida parchalanganligini bildiradi.
5. Saxarozali probirkada mis gidroksidini qaytarilishi kuzatilmaydi. Bu saxarozani gidrolizlamaganligini ko`rsatib, ayni vaqtda saxaroza α -amilazani spesifik substrati emasligini tasdiqlaydi.
6. Saxarazaning spesifikligini aniqlashda ikkita probirka olinib, bittasiga 10 tomchi 1% li kraxmal eritmasi, ikkinchisiga esa 10 tomchi 2% li saxaroza eritmasi solinadi.
7. Ikkala probirkaga 5 tomchidan achitqi saxarazasi qo`shilib, aralashtirilgach, ularni 10-15 daqiqaga 37°S li termostatga qo`yiladi. Ko`rsatilgan vaqt o`tgach, probirkalar olinib, ular tarkibidagi suyuqliklar bilan Trommer reaksiyasi o`tkaziladi. Saxaroza substrat sifatida bo`lgan probirkada mis gidroksidi qaytarilganligi kuzatiladi, bu esa saxarozani saxaraza ta'sirida parchalanganligini ko`rsatadi; kraxmal saqlagan probirka bilan Trommer reaksiyasi manfiy natija beradi, demak kraxmal saxarazaning substrati bo`la olmaydi.

Amilaza va saxaraza ta'sirining spesifikligi

Ferment	Substrat	Gidrolizlanish harorati	Trommer reaksiyasi

17-amaliy ish. So`lak $\alpha$ -amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorlarning ta`siri

Fermentlarning katalitik ta`siri ba`zi moddalar ishtirokida kuchayadi, bularga aktivatorlar deyiladi. Ferment faolligini pasaytiruvchi moddalarga esa ingibitorlar deb aytiladi. Ko`pincha aktivlovchi va tormozlovchi ta`sir har xil tuzlar tarkibiga kiruvchi metall ionlariga bog`liq. Masalan, natriy xlorid ta`sirida amilaza faolligi oshsa, mis sulfat qo`shilganda pasayadi. Aktivator va ingibitorlarning ta`sir mexanizmi murakkab bo`lib, unga ferment faol markaziga kiruvchi funksional guruhlarni metall ionlari bilan bog`lanishini sabab qilib ko`rsatadilar.

Aktivatorlar yoki ingibitorlar ta`sirini baholashda ferment katalitik faolligi o`sha moddalar ishtirokida sinab ko`riladi va olingan natijalar nazorat ko`rsatkichlari bilan solishtiriladi.

Tekshiriluvchi material: suyultirilgan so`lak (1-2 tomchi so`lakka 1 ml suv qo`shiladi).

Reaktivlar: Natriy xloridning 1% li eritmasi, mis sulfatning 1% li eritmasi, kraxmalning 0,5% li eritmasi, yodning kaliy yodiddagi eritmasi .

Jihozlar: Probirkalar, tomizgichlar, pipetkalar, termostat yoki termometrli suv hammomi.

Ishning bajarilishi.

1. Uchta probirka olinib, birinchisi 10 tomchi 1% li natriy xlorid eritmasidan, ikkinchisiga 10 tomchi 1% li mis sulfat eritmasidan, uchinchisiga 10 tomchi suv quyilib, hammasiga 20 tomchidan 0,5% li kraxmal va 1 tomchidan suyultirilgan so`lak qo`shilib, aralashtiriladi va tezlikda 37°S li termostatga joylashtirilib, vaqti aniqlanadi.
2. Kraxmalni gidrolizlanish tezligini aniqlash uchun kraxmal gidrolizlanayotgan probirkalardan 1-2 daqiqa oralatib, 1 tomchidan boshqa probirkalarga olinadi va u bilan yodning kaliy yodiddagi eritmasi bilan reaksiya o`tkaziladi. Gidroliz

jarayoni eritrodekstrin bosqichigacha davom ettiriladi va uni paydo bo'lgan vaqti daqiqalarda aniqlanadi.

So'lak α -amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorlarning ta'siri

Tekshirilayotgan modda	Ferment	Substrat	Eritrodekstrin hosil bo'lgan vaqti

Birinci ikkita probirkadagi kraxmalni eritrodekstrin bosqichigacha gidrolizlanishi uchun sarf bo'lgan vaqtni uchinchi probirkadagi (nazorat) kraxmalni gidrolizlanish vaqti bilan solishtirilib, tekshirilayotgan moddalarning aktivatorlik yoki ingibitorlik ta'siri to'g'risida xulosa chiqariladi.

Bahs munozara usuli

1-mavzu. Fermentlar ta'sirining o'ziga xosligi.

1. Spetsifiklik nima?
2. Spetsifiklikning qanday turlari bor?
3. Mutlaq va nisbiy spetsifiklik bir-biridan qanday farq qiladi?
4. Fermentlarning spetsifikligi nima bilan tushuntiriladi?
5. "Majburiy moslik" va "qulf-kalit" farazlarining o'ziga xos tomonlari.

2-mavzu. Fermentativ reaksiyalar kinetikasi.

1. Mixaelis-Menten konstantasi deb nimaga aytiladi?
2. Reaksiya tezligi substrat kontsentratsiyasiga qanday bog'langan?
3. Reaksiya tezligining ferment miqdoriga bog'liqligi.
4. Reaksiya tezligi bilan vodorod ionlari o'rtasida qanday bog'lanish bor?
5. Fermentativ reaksiya tezligi haroratga qanday bog'langan?

3-mavzu. Fermentlar faolligining boshqarilishi.

1. Fermentlarning faolligi qanday usullar bilan boshqariladi?
2. Fermentlarning faollantiruvchilariga nimalar kiradi?
3. Fermentlarning ingibirlovchi omillarga qanday moddalar?
4. Fermentlar ingibitorlarining ta'sir etish mexanizmiga ko'ra turlari.
5. Fermentlar faolligining allosterik boshqarilishi.

Fermentlar mavzusida tushunchalar tahlili

№	Tushunchalar	Mazmuni
1.	Ferment	
2.	Fermentlarning tarkibi	

3.	Oddiy ferment	
4.	Murakkab ferment	
5.	Kofaktor	
6.	Apoferment	
7.	Koferment	
8.	Faol markaz	
9.	Allosterik markaz	
10.	Fermentlarning kinetikasi	
11.	Fermentlarning o`ziga xosligi	
12.	Fermentlarning ta'sir qilish mexanizmi	
13.	Fermentning faollik birligi	
14.	Fermentning ingibirlanishi	
15.	Poli ferment sistema	
16.	Multi fermentlar	
17.	Izo fermentlar	
18.	Immobillangan fermentlar	
19.	Fermentning shifri	
20.	Oksidoreduktazalar	
21.	Transferazalar	
22.	Gidrolazalar	
23.	Liazalar	
24.	Izomerazlar	
25.	Ligazalar	

V-Mashg`ulot

Mavzu: Genetik axborotni ko`chirish turlari. Replikatsiya va transkripsiya mexanizmlari.

O`quv mashg`ulotining maqsadi : Genetik axborotni ko`chirish turlari. Replikatsiya va transkripsiya mexanizmlarini o`rganish. Nuklein kislotalarning tarkibiy qismlarini o`rganish. Tarkibiy komponentlarga sifat reaksiyalari o`tkazishni bilish va ularning xossalarini o`rganish.

***Amaliy mashg`ulot rejasi:*** Ma`ruzada olingan nazariy bilimlarni mustahkamlash.

1. Achitqida nukleoproteinlarni ajratib olish va gidrolizlash. Ularning tarkibiy qismlariga sifat reaksiyasi o`tkazish.
2. Venna diagrammasidan foydalanib 1) DNK; 2) RNK va ularning umumiy xossalarini yozish.

Dastlabki bilim darajasini aniqlash uchun savollar

1. Nukleoproteinlar nima, ular qanday tarkibiy qismlardan iborat?
2. Nukleoproteinlar tarkibida qanday oqsillar bor? Ularning aminokislotalik tarkibini ahamiyati nimada?
3. Mononukleotidlar nima, ularni gidrolizlaganda qanday unumlar hosil bo`ladi? Ular qanday sifat reaksiyalari bilan ochiladi?
4. Nuklein kislotalar molekulasida mononukleotidlar o`zaro qanday bog`lar yordamida bog`langan?
5. DNK va RNK larning qurilish darajalarida o`ziga xoslikni ko`rsating.
6. Genetik axborotni ko`chirishni qanday turlarini bilasiz?
7. Replikatsiya jarayonida DNK ga qaram bo`lgan RNK polimerazaning vazifasi nimadan iborat?
8. DNK reparatsiyasi qanday amalga oshiriladi?

9. Transkripton qanday qismlardan tashkil topgan va ularning vazifasi nimadan iborat?
10. pre-RNK larning etilish jarayoni qanday amalga oshiriladi?

Talabalarning mustaqil ishi

18- amaliy ish. Achitqi nukleoproteinlarining kislotali gidrolizi va ular tarikbini aniqlash

Achitqi ribonukleoproteinlarga boy bo'lgan material hisoblanadi. Ribonukleoproteinlar molekulasidagi oqsil, purin radikallari, fosfat kislota qoldig'i va uglevodli guruhlarini aniqlashda achitqini sulfat kislota bilan qaynatib, gidrolizlanadi. Gidrolizatdagi ribonukleoprotein unumlarini sifat reaksiyalari bilan ochiladi.

Tekshiriluvchi material: quritilgan yoki presslangan achitqi

Reaktivlar: Sulfat kislota 5% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis sulfatning 1% li eritmasi, ammiakning konsentrlangan eritmasi, kumush azot oksidining ammiakli eritmasi, orsin reaktivi, ammoniy molibden oksidining nitrat kislota eritmasi, floroglyusinning 30% li xlorid kislota eritmasi, 2% li eritmasi, magniy sulfat tuzining 5% li eritmasi, ammoniy xloridning 10% li eritmasi, lakmus qog'ozi.

Jihozlar: Dumaloq tagli kolba tiqini bilan, sovutgichli shisha truba, 50 yoki 100 ml o'lchamli silindr, filtrli voronkalar, probirkalar, tomizgichlar, pipetkalar, apteka tarozisi.

Ishning bajarilishi.

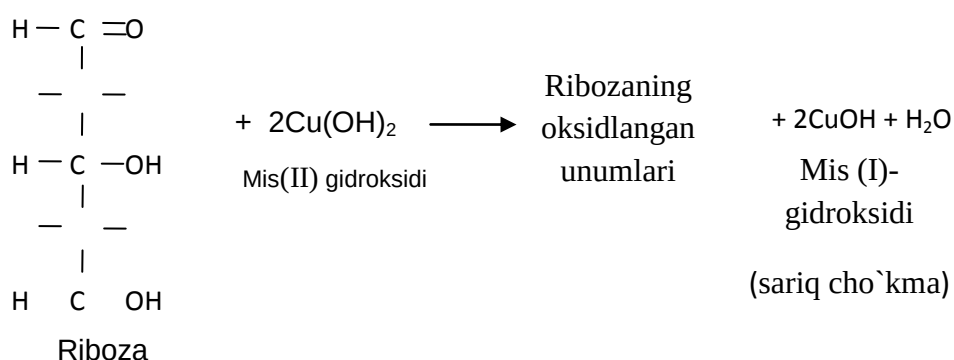
1. 100 ml li dumaloq tagli kolbaga 5 g yangi achitqi yoki 1 g quritilgani solinib, ustiga 40 ml 5% li sulfat kislota eritmasi qo'shiladi.

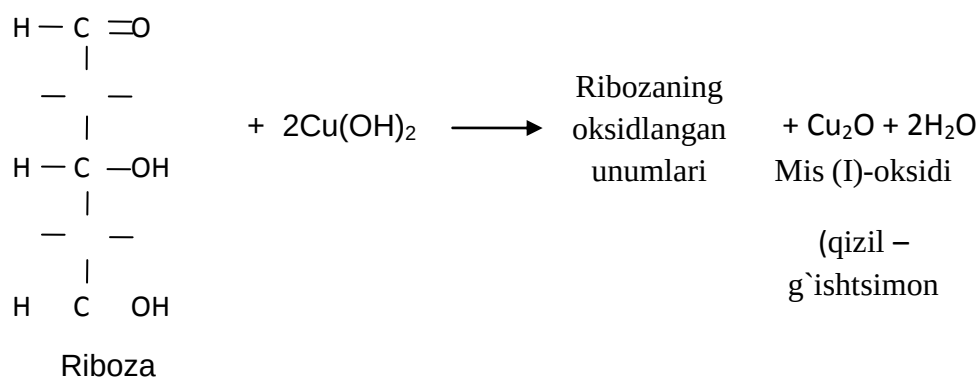
2. Teskari sovutgichli kolba tiqin (probka) bilan berkitilib, shtativga o`rnatiladi va havo tortuvchi shkafda asbest to`ri ustida 1-1,5 soat davomida ehtiyotkorlik bilan qaynatiladi.
3. So`ngra kolbadagi sovutilib, o`lchamli silindrga quyiladi va distillngan suv bilan suyuqlik avvalgi hajmiga yetkaziladi.
4. Olingan eritma filtrlanadi va u bilan oqsil, polipeptid, purin asoslari, uglevod, fosfat kislotasiga reaksiya qilinadi.

a) oqsil va polipeptidlar biuret reaktivi bilan ochiladi. 5 tomchi gidrolizatga 10% li o`yuvchi natriy eritmasidan ishqoriy reaksiyagacha (taxminan 10 tomchi) va mis kuporosidan tomchilab (1-2 tomchi) qizil-binafsha yoki och pushti rang hosil bo`lguncha tomiziladi;

b) purin asoslariga kumush tajribasi o`tkaziladi. 10 tomchi gidrolizatga lakmus bo`yicha ishqoriy reaksiyaga o`tguncha (taxminan 2-3 tomchi) ammiak eritmasi, so`ngra 5 tomchi kumush azot oksidini ammiakli eritmasi qo`shiladi. Purin asoslari ishtirokida uning kumushli birikmasi qo`ng`ir cho`kma hosil qiladi. Agarda cho`kma shu zahoti hosil bo`lmasa, biroz kutiladi;

v) uglevodlarni (pentoza) aniqlashda orsin va floroglyusin bilan Trommer reaksiyasi o`tkaziladi. Bu reaksiyada pentoza ishqoriy muhitda qizdirilganda uning aldegidli guruhi oksidlanadi, mis gidrati oksidi esa (havorang yoki ko`k cho`kma) mis gidroksidigacha qaytariladi (sariq yoki qizg`ish rangli cho`kma). Erkin aldegid guruhi bo`lmagan uglevodlar Trommer reaksiyasini bermaydi. Oksidlanish-qaytarilish reaksiyasi quyidagi ko`rinishda ifodalanadi:

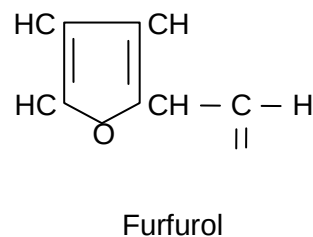
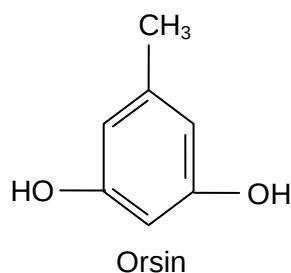




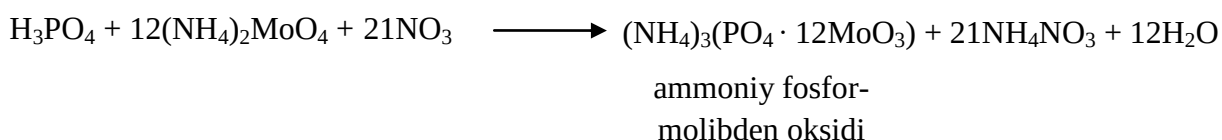
Probirkaga 10 tomchi gidrolizat quyib, lakmus yordamida 10% li o`yuvchi natriy eritmasi bilan neytrallanadi. So`ngra unga teng hajmda 10% li o`yuvchi natriy eritmasi va chayqatilganda o`chmaydigan mis gidroksidining zangori loyqasi hosil bo`lguncha tomchilab 1% li mis sulfat eritmasi qo`shiladi. Probirkadagi suyuqlik ustki qismi qaynaguncha ehtiyotlik bilan qizdiriladi, probirkadagi gidroksidning sariq cho`kmasi yoki mis oksidining qizg`ish-g`isht rangli cho`kmasi hosil bo`ladi. Cho`kmani hosil bo`lishi gidroliz natijasida gidrolizatda uglevod paydo bo`lganini bildiradi.

Uglevodlarni neytral suyuqlikda aniqlanganda uni oldindan o`yuvchi natriy bilan neytrallash shart emas;

g) orsin bilan reaksiya. 10 tomchi gidrolizatga teng hajmda orsinli reaktiv qo`shib, qaynaguncha qizdiriladi. Gidrolizatni ko`k rangga kirishi uning tarkibida pentoza borligini ko`rsatadi. Rang orsinli reaktiv tarkibidagi xlorid kislotasining pentoza bilan qizdirilganda furfurol hosil bo`lishiga bog`liq bo`lib, u orsin bilan reaksiyaga kirishganda rangli birikma hosil qiladi:



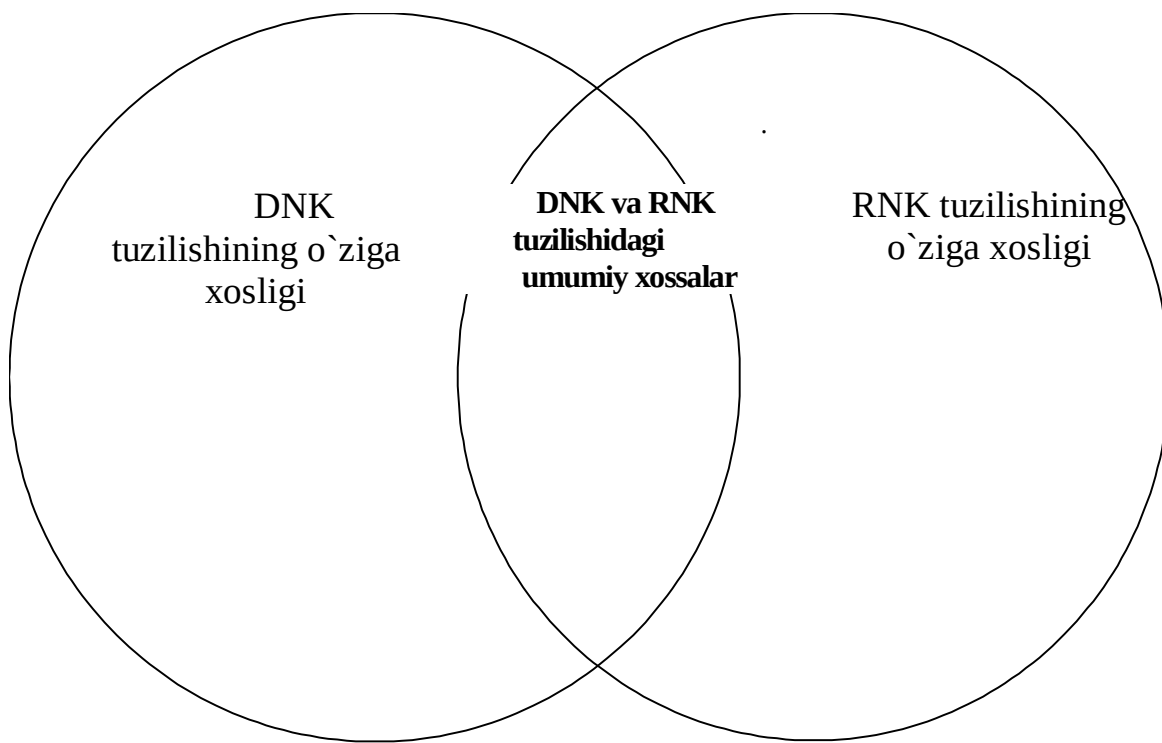
d) fosfat kislotasi molibden reaktivi va magneziya aralashmasi bilan ochiladi. Molibden reaktivi bilan aniqlashda 10 tomchi gidrolizatga teng hajmda ammoniy molibden oksidining azot kislotasidagi eritmasidan qo`shib, bir necha daqiqa qaynatiladi. Probirka sovuq suv oqimida sovutilganda sariq limon rangli ammoniy fosfornolibden oksidi kompleksini kristalli birikmasi cho`kmaga tushganligi kuzatiladi, bu esa gidrolizatda fosfat kislotasi borligini ko`rsatadi:



e) magneziya aralashmasi bilan aniqlashda probirkaga 10 tomchi gidrolizat solinib, uni ammiakning konsentrlangan eritmasi bilan ishqoriy muhitga o`tkaziladi va teng hajmda magneziya aralashmasi qo`shilganda fosfat kislotasining ammoniy magniyli tuzining $\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{PO}_4$ – oq kristall cho`kmasi hosil bo`ladi. Magneziya aralashmasi eritmasi alohida probirkada quyidagicha tayyorlanadi: bir necha tomchi 5% li magniy sulfat (yoki xlorid) eritmasiga tomchilab konsentrlangan magniy eritmasi cho`kma hosil bo`lishi to`xtaguncha, so`ngra 10% li ammoniy xlorid eritmasidan $\text{Mg}(\text{OH})_2$ cho`kmasi eriguncha quyiladi.

Xulosada nukleoproteinlar va ularning prostetik qismi qanday tuzilganligini ko`rsating.

Venna diagrammasidan foydalanib 1) DNK; 2) RNK va ularning umumiy xossalarini yozing.



VI-Mashg'ulot

Mavzu: Oqsil biosintezi- translyatsiya. Oqsil biosintezini boshqarilishi.

O'quv mashg'ulotining maqsadi : Genetik axborotning ko'chirilish usuli translyatsiya mexanizmi bilan tanishish. To'qimalarda oqsil biosintezini boshqarish mexanizmini o'rganish. Oqsillar biosinteziga ta'sir etuvchi preparatlarni taxlil qilish. Turli xil usullar bilan DNK va RNK miqdorini aniqlash.

Amaliy mashg'ulot rejasi: Ma'ruzada olingan nazariy bilimlarni mustahkamlash.

1. RNK miqdorini kolorimetrik usulda aniqlash.
2. DNK miqdorini kolorimetrik usulda aniqlash.
3. Blits-so'rov "Replikatsiya mexanizmi".
4. Tushunchalar tahlilini yozish.

19- amaliy ish. Kolorimetrik usul bilan RNK miqdorini aniqlash

RNK tarkibidagi pentoza orsin reaktivi bilan rangli birikma hosil qiladi. Rangning optik zichligi kolorimetrdagi o'lchanadi va o'lchov egri chizig'idan RNK miqdori topiladi.

Tekshiriluvchi material: RNKning suvli eritmasi.

Reaktivlar: orsin reaktivi, distillangan suv.

Jihozlar: probirkalar, shtativlar, pipetkalar, FEK, 0,5 sm kyuvetalar.

Ishning bajarilishi:

1. Tekshiruv tajriba probirkasiga 1 ml RNK eritmasi va 2 ml orsin reaktivi solinadi. Nazorat probirkasiga esa 1 ml distillangan suv va 2 ml orsin reaktivi solinadi. Ikkala probirka suv hammomida 20 daqiqa tutib turiladi. Bir ozdan so'ng eritmalar sovilib, FEKning qizil nur filtrda nazorat probirkasi qarshisida optik zichlik topiladi. RNKning miqdori o'lchov egri chizig'idan aniqlanadi.

2. O'lchov egri chizig'ini tayyorlash. 3 ta probirka 1 ml dan 50, 100, 200mg/ml RNK eritmasi va 2 ml dan orsin reaktivi solib, yuqoridagidek suv hammomida qizdiriladi, 20 daqiqa o'tgach, eritmalar sovilib, FEKda ularning optik zichligi aniqlanadi. Absissa o'qiga RNKning miqdori, ordinata o'qiga optik zichlik keltirilib, o'lchov egri chizig'i tuziladi.

20- amaliy ish. DNK miqdorini kolorimetrii usul bilan aniqlash

DNK tarkibidagi dezoksiriboza difenilamin bilan ko'k rang hosil qiladi. Rangning zichligi DNK miqdoriga to'g'ri proporsionalligidan fotoelektrokolorimetrdan foydalaniladi.

Tekshiriluvchi material: DNKning suvli eritmasi

Reaktivlar: difenilamin reaktivi, diefenilamin reaktivi, distillangan suv

Jihozlar: probirkalar, shtativ, pipetkalar, FEK, 0,5 sm kyufetalar

Ishning bajarilishi:

Bitta tekshiruv va bitta nazorat probirkasi tayyorlanadi. Birinchisiga DNKning suvli eritmasidan 1 ml, ikkinchisiga 1 ml distillangan suv solinadi. Har ikkala probirkaga 2 ml dan difenilamin reaktivi solib, 10 daqiqa suv hammomida ushlab turiladi. Bir ozdan so'ng probirkalardagi suyuqliklar sovutiladi va FEKning qizil nur filtrida nazorat suyuqligi qarshisida ko'riladi. Tekshiriluvchi DNKning optik zichligini topgach, o'lchov egri chizig'idan uning miqdori aniqlanadi.

O'lchov egri chizig'ini tayyorlash

3 ta probirkaga qon sentrasiyasi turlicha (50, 100, 200 mkg/ml) DNK eritmasidan 1 ml va difenilamin reaktividan 2 ml solib, 10 daqiqa qaynab turgan suv hammomida qizdiriladi. Eritma sovutilgach, yuqoridagidek fotoelektrokolorimetrlanadi. Topilgan optik zichlik va DNK miqdoridan o'lchov egri chizig'i tuziladi. Absissa o'qiga DNK miqdori, ordinata o'qiga optik zichliklar keltiriladi.

Blits-so'rov. "Replikatsiya mexanizmi"

Guruh bahosi	Guruh xatosi	To'g'ri javob	Yakka xato	Yakka baho	Replikatsiya mexanizmida ishtirok etuvchi moddalar
					Okazaki fragmentlari
					Ajratuvchi oqsillar
					DNK ligaza
					DNK polimeraza I
					RNK polimeraza

					RNK zatlavka ("tomizg'i")
					ATF
					Ribonukleaza H
					Xelikaza
					DNK polimeraza III
					RNK- polimeraza – praymaza
					Replikativ ayri

Baholash mezonlari:

7-8 ta to`g`ri javob – “qoniqarli”

9-12 ta to`g`ri javob – “yaxshi”

11-12 ta to`g`ri javob – “a’lo”

Nuklein kislotalar mavzuida tushunchalar tahlili

№	Tushunchalar	Mazmuni
1.	Nuklein kislota	
2.	DNK	
3.	RNK	
4.	mRNK	
5.	tRNK	
6.	rRNK	
7.	Nukleosoma	
8.	DNK-RNK gibridi	
9.	Genetik axborot	
10.	Replikatsiya	

11.	Transkripsiya	
12.	Transkripton	
13.	Ekzon	
14.	Intron	
15.	Prosessing	
16.	Genetik kod	
17.	Oqsil biosintezi	
18.	Rekognitsiya	
19.	Transpeptidatsiya	
20.	Translokatsiya	
21.	Terminatsiya	
22.	Poliribosoma	
23.	Nukleotid	
24.	Nukleozid	
25.	RNK-polimeraza	
26.	DNK-polimeraza	

VII- Mashg`ulot

Mavzu: Moddalar va energiya almashinuvining umumiy tavsifi. Pirouzum kislotasining oksidlanishli dekarboksillanishi. Limon kislotali sikl va uning ahamiyati

O`quv mashg`ulotining maqsadi : Modda almashinuvi jarayonlarini o`rganish. Piruvatni oksidlanishi va Krebs sikli dehidrogenazalarini o`rganish.

***Amaliy mashg`ulot rejasi:*** Ma`ruzada olingan nazariy bilimlarni mustahkamlash.

1. Limon kislota sikli dehidrogenaza fermentlari faolligini aniqlash.
2. Mushak suksinatdehidrogenaza faolligini aniqlash.
3. Oraliq nazorat

Dastlabki bilim darajasini aniqlash uchun savollar

1. Katabolizm va anabolizm jarayonlari nima, bir-biri bilan qanday bog`liqligi bor?
2. Mitoxondriyalar qanday tuzilgan?
3. Makroergik birikmalarni sanab bering, ATF qurilishini yozing.
4. NAD ga bog`liq degidrogenazalarga misol keltiring. Ularning tuzilishi va biologik ahamiyati nimada?
5. FAD ga bog`liq degidrogenazalar qanday reaksiyalarda ishtirok etadi, ularning tuzilishi qanday?
6. Krebs sikli reaksiyalarida ishtirok etadigan substratlarni sanab bering, ularning ketma-ketligi qanday?
7. Suksinatdegidrogenaza va sitoxromoksidaza fermentlari qaysi biokimyoviy reaksiyalarda ishtirok etadi?
8. Izositratdegidrogenaza faolligini aniqlash usuli nimaga asoslangan?

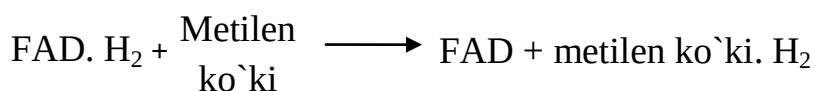
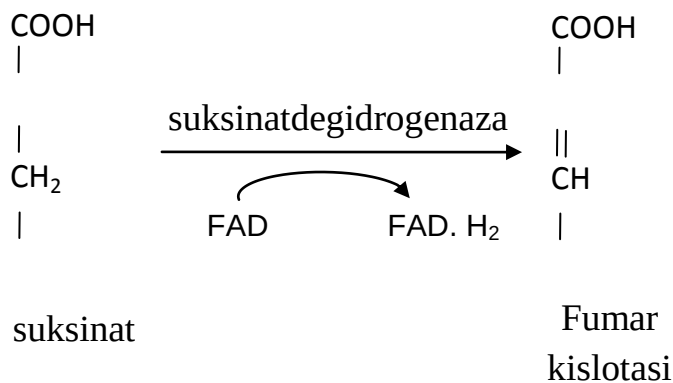
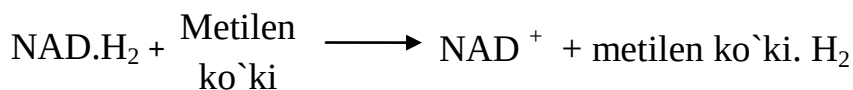
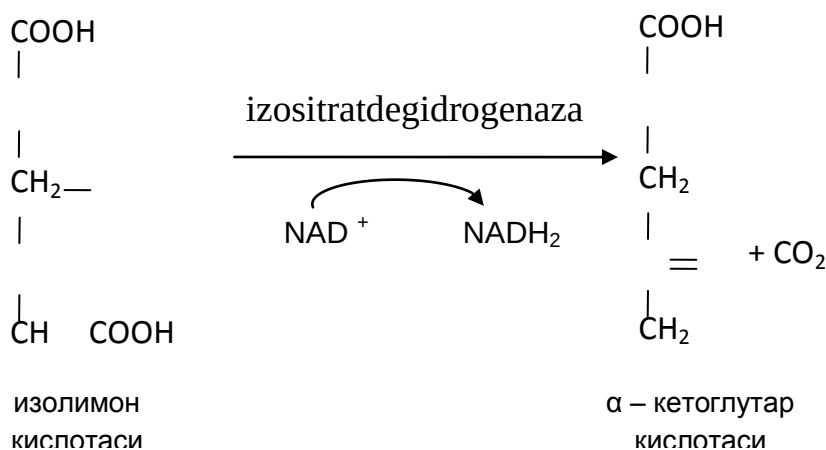
Talabalarning mustaqil ishi

21-amaliy ish. Limon kislota sikli degidrogenaza fermentlari faolligini aniqlash

Organizmida bir qator substratlar to`g`ridan-to`g`ri degidrogenazalar ta'sirida degidririlanadilar. Bular orasida sitrat sikli (uchkarbon kislotalar yoki Krebs sikli)da qatnashuvchi izolimon, α -ketoglutarat, qahrabo (suksinat), olma kislotalari alohida ahamiyatga ega. Substratlardan ajralgan vodorod (proton va elektronlar) reaksiya oxirida to`qima nafas olishi fermentlari kompleksi yordamida kislorodga uzatiladi. Masalan, sitrat siklidagi izolimon va suksinat kislotalari degidrogenazalarini to`qimalarda aniqlashda kislotalarning o`zi substrat sifatida ishtirok etadi, bunda vodorod akseptori sifatida metilen ko`kidan foydalaniladi. To`qimalarda degidrogenazalar bor bo`lsa, metilen ko`ki rangsizlanadi, chunki ushbu organik bo`yoq qaytarilganda, rangsiz leykobirikmaga aylanadi. Izositratdegidrogenazaning kofermenti – nikotinamidadenindinukleotid (NAD^+),

suksinatdegidrogenazani esa – flavinadenindinukleotid (FAD) qatnashadi. Suksinatdegidrogenaza tarkibida temir bor.

Izolimon kislotasi oksidlanib, degidririlanadi va dekarboksillanib, α -ketoglutarat kislotasiga o'tadi, suksinat esa fumarat kislotasini hosil qiladi:



Izolimon kislotasining degidrogenazasini (izositratdegidrogenaza) katalitik ta'sirini tekshirishda substrat sifatida limon kislotasidan foydalaniladi, chunki

ushbu substrat to'qima tarkibidagi akonitatgidrataza fermenti ishtirokida izolimon kislotasiga izomerlanadi.

Tekshiriluvchi material: mushak to'qimasi.

Reaktivlar: Natriy sitratning 3% li eritmasi (lakmus bo'yicha neytrallangan), natriy suksinatning 3% li eritmasi (lakmus bo'yicha neytrallangan), sulfosalisil kislotasining 20% li eritmasi, metilen ko'kning 0,002% li eritmasi, vazelin moyi yoki kerosin.

Jihozlar: Probirkalar, termometrli suv hammomi, tomizgichlar, shpatel, shisha tayoqchalar, oyna qalami.

Ishning bajarilishi.

1. Ucha raqamlangan probirkaga shpatel bilan teng miqdorda mushak qiymasidan solinadi.
2. Birinchi probirkaga 10 tomchi natriy sitrat eritmasidan, ikkinchisiga – natriy suksinatdan, uchinchisiga (nazorat) esa 10 tomchi sulfosalisil kislotasi eritmasidan tomiziladi.
3. Har bir probirkaga bir tomchidan metilen ko'ki va 10 tomchidan vazelin moyi qo'shiladi. Vazelin moyi eritma ustini qoplab, anaerob sharoit yaratadi va bu bilan qaytarilgan birikmalarning havo kislorodi bilan oksidlanishini oldi olinadi.
4. Probirkalar 37°S li suv hammomiga yoki termostatga joylashtirilib, sitrat va suksinat solingan probirkalardagi metilen ko'kini asta-sekin rangsizlanayotganligi kuzatiladi.
5. Nazoratli probirkada metilen ko'ki o'zgarmaydi, chunki undagi ferment faolligi sulfosalisil kislotasi bilan faolsizlantirilgan.

Sut degidrogenazasi va limon kislotasi sikli degidrogenazalarini aniqlashdagi amaliyot natijalari jadval shaklida rasmiylashtiriladi.

Ferment	Fer-	Substrat	Ferment	Vodorod	Qaytarilgan metilen ko'ki
---------	------	----------	---------	---------	---------------------------

manbai	ment		katalizlagan substrat	akseptori	Faol ferment	Faolsiz- lantirilgan ferment

Xulosada degidrogenazalar ta'siridagi kimyoviy reaksiya xili va biologik oksidlanish jarayonida ushbu fermentlar ahamiyati ko'rsatiladi.

22-amaliy ish. Mushak suksinatdegidrogenaza faolligini aniqlash

Biologik oksidlanish jarayonida tabiati jihatidan uch xil ferment ishtirok etadi. Bularga NADga bog'liq bo'lgan, FADga bog'liq bo'lgan degidrogenaza fermentlari va gem saqlovchi fermentlar - sitoxromlar kiradi.

Suksinatdegidrogenaza (SDG) - temirflavoproteid fermentlar turkumiga kirib, hujayra mitoxondriyasida joylashadi.

SDG fermenti FAD kofermentiga bog'liq FAD suksinatni oksidlab (uning vodorodini o'ziga tortib oladi), o'zi qaytariladi.

Qaytarilgan FADH₂ boshqa oksidlangan akseptorga dixlorfenolindofenolga vodorod elektronlarini uzatadi. Ko'k rangdagi oksidlangan dixlorfenolindofenol qaytarilganda rangsizlanadi va mushak tarkibidagi SDG faolligini tasdiqlab beradi.

Tekshiriluvchi material: mushak to'qimasi

Reaktivlar: qahrabo kislotaning 1% li eritmasi, dixlorfenolindofenolning 0,1% li eritmasi, distillangan suv.

Jihozlar: probirkalar, shtativlar, voronkalar, shisha tayoqchalar, chinni hovoncha, doka filtrlar, suv hammomi yoki termostat

Ishning bajarilishi:

1. Fermentni ajratish

1-2 g yangi mushak to'qimasi qaychi yordamida maydalanadi va chinni hovonchada suv bilan eziladi. Hosil bo'lgan mushak qiymasi ikki qavatli doka orqali voronkadan o'tkaziladi. Qiyma 25 ml suvda yuviladi. Yuvilgan mushak qiymasi toza probirkaga olinadi va ustiga 4 ml suv solib shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi. Probirkadagi aralashma 3 qismga bo'linadi. Birinchi probirkadagi mushak fermentining faolligi qaynatish yo'li bilan yo'qotiladi.

2. Fermentning farqligini aniqlash

Quyidagi jadvalga binoan reaksiyon aralashma tayyorlanadi:

Probirkalar	Suksinat.ml	Distillangan suv, ml	Dixlorfenolin dofenol, tomchi
1	1,0	0,5	2
2	1,0	0,5	2
3	-	1,5	2

Probirkadagi suyuqliklar aralashtirilib, 15 daqiqa 37°C li termostat yoki suv hammomiga qo'yiladi. Dixlorfenolindofenolning rangsizlanishi kuzatiladi.

I-ON savollari

1. Aminokislotalarning biologik tasnifi. Almashinadigan va almashinmaydigan aminokislotalar.
2. Aminokislotalarning strukturaviy tasnifi. Alifatik, aromatik va geterotsiklik aminokislotalar.
3. Oqsillarning birlamchi tuzilishi. Peptid boq'ining xossalari.
4. Oqsillarning ikkilamchi tuzilishi. Alfa-spiral va betta struktura. Vodorod boq'i va uning hosil bo'lishi.
5. Oqsillarning uchlamchi tuzilishi. Globulyar va fibrilyar oqsillar. Oqsillarning uchlamchi tuzilishini mustahkamlovchi boq'lar.
6. Oqsillarning to'rtlamchi tuzilishi. Oligomer oqsillar. Gemoglobin misolida oqsillarning to'rtlamchi tuzilishini tushuntiring.
7. Oqsillarni tasnifi. Oddiy va murakkab oqsillarning asosiy vakillari.
8. Gistonlar va protaminlar. Tuzilishi va biologik funktsiyasi.
9. Albuminlar va globulinlar. Ularni vazifalari
10. Glikoproteidlar va proteoglikanlar. Tuzilishi va vazifalari.
11. Lipoproteidlar. Lipidlarni qonda transport shakllari.
12. Gemoglobinni tuzilishi va funktsiyasi.
13. Ferment va nobiologik katalizatorlarning o'zaro o'xshashligi va farqlari.

14. Fermentning faol markazlari tuzilishi. Fermentlarning faol markazlarining funktsional guruhlari.
15. Oddiy va murakkab fermentlarning faol markazlarining funktsional guruhlari. Allosterik markazning vazifasi.
16. Fermentlarning ta'sir etish mexanizmi. Fermentativ kataliz mexanizmidagi ferment-substrat kompleksining ahamiyati.
17. Fermentlar faolligining allosterik boshqarilishi. Allosterik aktivatorlar va ingibitorlar, ularning ta'sir etish mexanizmi.
18. Fermentlar faolligini boshqarilishi va fermentlarning ingibitorlari: raqobatli, raqobatsiz ingibirlanish.
19. Fermentativ reaksiyalarning kinetikasi. Fermentativ reaksiya tezligining ferment miqdoriga, pH muhitga, haroratga boq`liqligi.
20. Fermentlar ta'sirining o`ziga xosligi. Fisher va Koshlend gipotezalari.
21. Fermentlarni tibbiyotda qo`llanilishi.
22. Nuklein kislotalarning turlari, ularning hujayrada joylanishi va taqsimlanishi. Dezoksiribonuklein kislota (DNK), ribonuklein kislotalar (mRNK, tRNK, rRNK) ularning biologik vazifalari.
23. Nuklein kislotalarning tarkibiy qismlari. Polinukleotidlarning gidroliz sxemasi.
24. Mononukleotidlarning asosiy tarkibiy qismlari: azotli asoslar. Nukleozidlar. Nukleotidlar. Polinukleotidlar. Misollar keltiring.
25. DNK va RNK ning birlamchi tuzilishi. Polinukleotidlardagi nukleotidlararo boq`larning turlari, ularning tavsifi.
26. DNK ning ikkilamchi tuzilishi, uning tavsifi. DNK ning qo`shaloq spiralini mustaqkamlovchi boqlarning turlari. Asoslarning komplementarligi.
27. t-RNK ning ikkilamchi strukturasi.
28. Replikatsiya mexanizmi.
29. Transkripsiya mexanizmi.
30. pre-RNK larning etilishi.
31. Translyatsiya mexanizmi.
32. Aminoatsilli t-RNK ning hosil bo`lishi va uni oqsillar biosintezidagi roli.

33. Oqsil biosintezining repressiyasi va induktsiyasi.
34. Oqsillar biosinteziga ta'sir etuvchi preparatlar.
35. Genetik kod va uning xossalari.

VIII- Mashg`ulot

Mavzu: Nafas olish zanjiri strukturasi va funktsiyasi. Oksidlanishli fosforlanish mexanizmi.

O`quv mashg`ulotining maqsadi : To`qima nafas olish zanjirini o`rganish. Fosforlanish nuqtalarida ATF ni sintezlanish mexanizmini bilish. Oksidlanishli va substratli fosforlanishni o`zaro farqlash.

Amaliy mashg`ulot rejasi: Ma'ruzada olingan nazariy bilimlarni mustahkamlash.

2. Mushak tarkibidagi sitoxromoksidaza fermentini aniqlash.
3. "Blits-so`rov" texnikasini o`tkazish.
4. Tushunchalar tahlilini yozish.

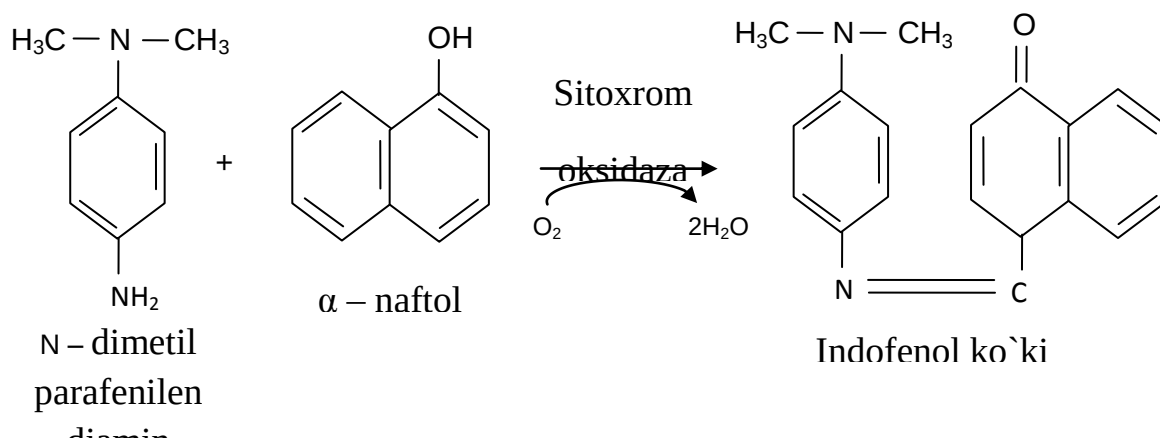
Dastlabki bilim darajasini aniqlash uchun savollar

1. Metabolizm nima? Uning asosiy bajaradigan vazifalari nimalardan iborat?
2. Yuqori energiyali bog'larga nimalar kiradi?
3. Organizmda energiya ozod bo`lishining bosqichlarini ta`riflab bering.
4. Mitoxondriyalar qanday tuzilgan?
5. Biologik oksidlanish nima?
6. Nafas olish zanjiri fermentlarini joylashish ketma-ketligini yozib bering.
7. Oksidlanishli fosforlanish nima? Bu jarayonda qanday makroergik birikmalar hosil bo`ladi?
8. Kislorod yetishmaganda (gipoksiya) nafas olish zanjirida qanday o`zgarishlar kuzatiladi?
9. Nafas olish zanjirida FADH va NADH dan necha molekuladan ATF hosil bo`ladi?
10. Oksidlanishli fosforlanish bilan substratli fosforlanish nima farqi bor?

Talabalarning mustaqil ishi

23- amaliy ish. Sitoxromoksidaza faolligini mushak to'qimasida aniqlash

Sitoxromoksidaza yoki $a+a_3$ sitoxromlar kompleksi nafas olish zanjirining oxirgi qismi hisoblanib, barcha o'simlik va hayvon hujayralarida keng tarqalgan, kimyoviy jihatdan gemin tabiatli fermentlar guruhiga kiradi. Sitoxromoksidaza yuqori darajadagi maxsus ferment, qaytarilgan sitoxromdan elektronni kislorodga tashib beradi, mitoxondriyani ichki membranasida joylashgan bo'lib, faqatgina uni parchalab, ajratish mumkin. Sitoxromlar, xususan, sitoxromoksidaza turli fenollar va aromatik aminlarni havo kislorodi bilan oksidlashi mumkin. Masalan, α -naftol va N-dimetilparafenildiaminning ("Nadi" reaktivi) ishqoriy eritmasida sitoxromoksidaza oksidlanib, indofenol ko'kini hosil qiladi. Rangning ravshanlik darajasi ferment faolligiga to'g'ri proporsional.



Tekshiriluvchi material: maydalangan mushak to'qimasi

Reaktivlar: Nadi reaktivi, distillangan suv.

Jihozlar: Chinni hovoncha, doka yoki qog'ozli filtrlar, voronka, pipetkalar, qum, probirkalar, suv hammomi.

Ishning bajarilishi. A. Sitoxromoksidaza preparatini tayyorlash.

1. 300 mg maydalangan yangi mushak to'qimasini chinni hovonchada ezib, ustiga 6 ml distillangan suv quyiladi. Aralashmadagi qaytaruvchi moddalar va suvda eruvchi fermentlar doka yoki qog'ozli filtr orqali ekstraksiya qilinadi.
2. Ushbu jarayon yana ikki marta qaytarilgandan so'ng, tarkibida sitoxromlar va sitoxromoksidaza saqlagan rangsiz mushak to'qimasi sitoxromoksidaza preparati sifatida foydalaniladi.

B. Sitoxromoksidazani sitoxromlar va havo kislorodi ishtirokida “Nadi” reaktivini oksidlashi.

1. Olingan sitoxromoksidaza preparatining bir qismini filtr qog'ozda qoldirib, 1-2 tomchi “Nadi” reaktividan tomiziladi.
2. 3-5 daqiqadan keyin ko'k yoki yashil rang paydo bo'ladi. Ushbu rang sitoxromoksidaza fermenti ta'sirida n-fenilendiamin va α -naftolni oksidlangan indofenol birikmasini hosil bo'lganligini ko'rsatadi.
3. Preparatni ikkinchi qismini 1 ml distillangan suv saqlagan probirkaga olib, qaynab turgan suv hammomida 5 daqiqa davomida ushlab turiladi, suyuqlik sovutilgach, suvi ehtiyotlik bilan to'kib tashlanadi.
4. Probirka tubida qolgan mushak to'qimasi shisha tayoqcha bilan filtr qog'ozga olinib, yuqoridagi reaksiya takrorlanadi. Ko'k rangni paydo bo'lmasligi qaynatish natijasida ferment faolligi yo'qolganligini bildiradi.

Sitoxromoksidaza tarkibidagi gem temiri har xil moddalar, xususan sianidlar, sulfidlar, azidlar ta'siriga tez berilishi tufayli ular bilan zaharlanganda sitoxromoksidaza faolligi pasayib, gistotoksik gipoksiya rivojlanadi. Natijada to'qimalarda kislorod yetishmovchiligi kuzatilib, mitoxondriya nafas olish zanjirida kisloroddan elektron va protonlarni akseptori sifatida foydalanish imkoniyati yo'qoladi. Sitoxromoksidaza faolligini “Nadi” reaktivi yordamida ochish usulidan klinika va sitologiyada bioptatlar va qon hujayralarida to'qima nafas olishini buzilganligini tashxislashda qo'llaniladi.

Olingan natijalar jadval ko'rinishida rasmiylashtiriladi.

Sitoxromoksidaza fermenti faolligini mushak to'qimasida aniqlash

Namuna №	Material	Ferment	Substrat	Tajriba sharoiti		Namuna rangi
				Harorat ta'siri	Ingibitorlar	

Blits-so'rov. "Nafas olish zanjiri"

Guruh bahosi	Guruh xatosi	To'g'ri javob	Yakka xato	Yakka baho	Nafas olish zanjirida ishtirok etuvchi moddalar
					FAD
					FMN
					NAD
					a ₃ sitoxrom
					b sitoxrom
					Koferment Q
					c ₁ sitoxrom
					Elektronning ajralishi
					c sitoxrom
					Protonning ajralishi
					a sitoxrom
					O ₂

Baholash mezonlari:

7-8 ta to'g'ri javob – “qoniqarli”

9-12 ta to'g'ri javob – “yaxshi”

11-12 ta to'g'ri javob – “a'lo”

Tushunchalar tahlili

№	Tushunchalar	Mazmuni
1.	Katabolizm	
2.	Anadolizm	
3.	Metabolizm	
4.	Yuqori energetik fosfatlar	
5.	piruvatdegidrogenaza	
6.	Atsetil-KoA	
7.	Krebs sikli	
8.	Substratli fosforlanish	
9.	Oksidlanishli fosforlanish	
10.	Flavoproteid (FP)	
11.	Koferment Q (ubixinon)	
12.	Sitoxromlar	
13.	Sitoxromoksidaza	
4.	NAD ($\text{NAD} \cdot \text{H} + \text{H}^+$)	
15.	FAD ($\text{FAD} \cdot \text{H}_2$)	
16.	NAD ga bog`liq degidrogenazalar substratlari	
17.	FAD ga bog`liq degidrogenazalar substratlari	
18.	fosforlanish	

	koeffitsiyenti (P/O)	
19.	To`liq nafas olish zanjiri	
20.	Qisqa nafas olish zanjiri	
21.	Mitchel nazariyasi	
22.	H ⁺ - ATF sintetaza	

Asosiy adabiyotlar

1. Obidov O.O., Jo'rayeva A.A. Biologik kimyo laboratoriya amaliyoti, -T., "Extrimum pres", 2010.
2. Obidov O.O., Jo'rayeva A.A., Malikova G.Yu. Biologik kimyo, -T., "Tafakkur", 2012.
3. Sobirova R.A va boshqalar. Biologik kimyo. -T., "Yangi asr avlodi", 2006.
4. Nikolaev A.Ya. Biologik kimyo. Toshkent. Ibn Sino nomidagi nashriyot, 1991.

Qo'shimcha adabiyotlar

1. Xoshimova M.A., Maqsudova A.N., Nurmuxamedov A., Mirzaulukova M. Biokimyo va biokimyoviy tekshirish usullari. T., "Fan va texnologiya", 2012.
2. Березов Т.Т., Коровкин. Биологическая химия. Москва «Медицина» 2004.
3. Николаев А.Я. «Биологическая химия». –М.МИА, 2004 г.
4. Клиническая биохимия. Под ред. академика В.А.Ткачука. Учебное пособие. –М.Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа» 2008.

5. Кнорре Д.Г., Мызина С.Л. «Биологическая химия» учебник для химиков.
6. Пустовалова Л.М. «Практикум по биохимии» для студентов ВУЗов, «Ростов на Дону». 1999 г.

