O’ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG’LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI

TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

“BIOLOGIK KIMYO” FANIDAN

3 KURS 5510500-FARMATSIYA (TURLARI BO`YICHA), 5111000- KASB TA`LIMI YO`NALISHLARI TALABALARIGA LABORATORIYA MASHG`ULOTLARI UCHUN

USLUBIY KO`RSATMA

(I QISM)

TOSHKENT – 2021

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI

TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

"TASDIQLAYMAN"
O'quv va tarbiyaviy ishlar bo`yicha
prorektor prof.Z.A.Yuldashev
2021 yil " 23 " mart
№ 8 sonli bayonnoma

"BIOLOGIK KIMYO" FANIDAN
5510500-FARMATSIYA(TURLARI BO`YICHA),5111000- KASB TA`LIMI YO`NALISHLARI TALABALARIGA LABORATORIYA MASHG`ULOTLARI UCHUN USLUBIY KO`RSATMA (I QISM)

TOSHKENT – 2021

Tuzuvchilar:

A.A.Juraeva - Toshkent farmatsevtika instituti Organik va biologik kimyo kafedrasi dotsenti, b.f.n

A.N.Maqsudova - Toshkent farmatsevtika instituti Organik va biologik kimyo kafedrasi dotsenti, b.f.n

I.Sh.Kucharova - Toshkent farmatsevtika instituti Organik va biologik kimyo kafedrasi katta o`qituvchisi, b.f.n.

Malikova G.Yu - Toshkent farmatsevtika instituti Organik va biologik kimyo kafedrasi dotsenti, b.f.n

Taqrizchilar:

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

Fayziyeva Z. – Toshkent farmatsevtika institute, farmakologiya va klinik farmatsiya kafedrasi dotsenti,t.f.d.

Uslubiy ko'rsatma Organik va biologik kimyo kafedrasi yig'ilishida (2021 yil "12" yanvar dagi № 12 sonli majlis bayoni) muhokama qilindi va ma'qullandi.

Kafedra mudiri **A.K.Karimov**

Uslubiy ko'rsatma Toshkent farmatsevtika instituti soha uslubiy kengashida (2021 yil "26" yanvar dagi № 6 sonli majlis bayoni) muhokama qilindi va ma'qullandi.

Kengash raisi **R.X.Sultonova**

Uslubiy ko'rsatma Toshkent farmatsevtika instituti Markaziy uslubiy kengashida (2021 yil "23" mart dagi № 8 sonli majlis bayoni) muhokama qilindi va ma'qullandi.

Kengash kotibasi **S.P.Xadjimetova**

KIRISH

Har bir jamiyatning kelajagi undagi ta’lim tizimining qay darajada rivojlanganligi bilan belgilanadi. Demokratik, xuquqiy fuqarolik jamiyati qurish yo’lida borayotgan O’zbekiston Respublikasi rivojlanishining muhim sharti zamonaviy, iqtisodiyot, fan, madaniyat, texnika, texnologiya asosida kadrlar tayyorlashning takomillashgan tizimini yaratishdan iborat.

Zamonaviy ta’lim dasturlari asosida yutuk mutaxassis kadrlar tayyorlash va ta’lim samaradorligini oshirishga doir masalalar “Kadrlar tayyorlashning milliy dasturi”da o’z ifodasini topgan.

Bu ko’rsatmada 18 ta laboratoriya mashg’ulot darslari o’z aksini topgan

Biologik kimyo fanini o’rganishdan maqsad zamonaviy ilmiy yutuqlar asosida metabolism jarayonlarini o’zlashtirishdir. Bu maqsadga erishish va o’quv jarayonini tuzishda o’quv-uslubiy qo’llanma katta rol o’ynaydi.

Hozirgi davrda ishlab chiqarilayotgan dori darmonlarning ko’pchiligini ksenibiotiklar va autobiogen moddalar tashkil etadi. Shu dori vositalarini ta’sir etish mexanizmlari haqidagi bilimlarni, shu metabolizmda amalga oshadigan biokimyoviy jarayonlarni bilish farmatsevt uchun muhimdir.

Biologik kimyo fanini barcha farmatsevtik fanlar jumladan farmatsevtik kimyo, farmakognoziya, farmakologikbiologik kimyo, toksikologik kimyo, dori vositalari texnologiyasi kabi fanlarni oson tushunadi va o’zlashtiradi.

Ushbu tayyorlangan o’quv-uslubiy ko’rsatma “Farmatsiya”, “Kasb ta’limi”, yo’nalishlari talabalari uchun mo’ljallangan bo’lib, zamonaviy pedagogik va axborot texnologiya usullarini qo’llagan holda laboratoriya mashg’ulot darslarini olib borishda ijodiy yondoshish imkonini beradi.

.

.

MUNDARIJA

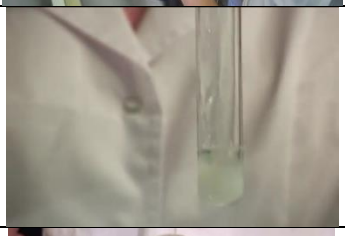
1-amaliy ish. Mushak to'qimalaridan oqsillarni ajratish

Miofibrillalar - qisqaruvchi elementlar mushak hujayralari uchun xos birikmalardir. Ular miozin va aktin kabi qisqaruvchi oqsillar, tropomiozin va troponin kabi boshqaruvchi oqsillardan iborat. Mifbrofill 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.

Reaktivlar	*Jihozlar*
kaliy xloridning 5% li eritmasi, natriy gidroksidning 0,1 mol/l eritmasi, uchxlorsirka kislota (UXSK)ning 10% li eritmasi.	sentrifuga, sentrifuga tarozi, sentrifuga probirkalar, chinni hovoncha, shisha qum, oddiy probirka va shtativlar, shisha tayoqcha, pipetka, filtr qog'ozi, doka va voronkalar.

№	Jarayon		Ball
1	2 g mushak to'qimasini qaychi bilan maydalab, hovonchaga solinadi.		
2	Uning ustiga 2 ml 5% li kaliy xlorid eritmasi va shisha qum solib, ishqalanadi.		
3	So'ng 3 ml kaliy xlorid eritmasi solinib, 5 daqiqa ishqalash davom ettiriladi. Bunda aralashma bir xil holatga keladi, buni ekstrakt deyiladi.		
4	Olingan aralashma ikkita sentrifuga probirkasiga solinadi, shisha qum hovonchada qoladi.		
5	Probirkalar sentrifuga tarozida pipetka orqali 5% li kaliy xlorid eritmasi qo'shish orqali bir xil og'irlikka keltiriladi.		

6	Gomogenat 15 daqiqa 4000 marta aylanadigan sentrifugada aylantiriladi. Bunda hujayra bo'lakchalari, parchalangan hujayralar, biriktiruvchi to'qima tolalari cho'kmaga tushadi		
7	Cho'kma ustidagi suyuqlik toza probirkaga olinadi.		
8	10 ml mushak ekstraktiga 10 tomchi 10%-li NaOH va 1 tomchi 1%li mis sulfat eritmasi tomiziladi		
9	Probirkada turg`un ko`k-binafsha rang hosil bo`ladi.		

2-amaliy ish. Sut oqsili - kazeinni ajratish

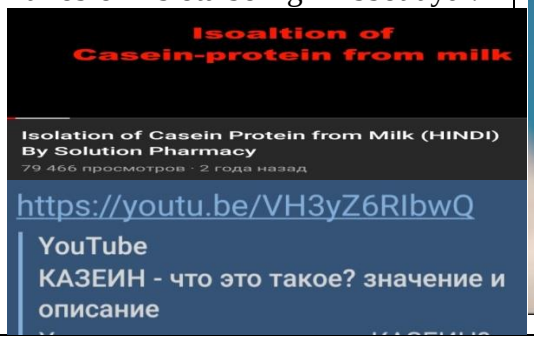
Sut tarkibida albumin, globulin va murakkab oqsil-fosfoproteidlar vakili bo'lgan kazein bor. Kazein sut oqsillarining 80% ini tashkil qiladi. Kazein nordon xossaga ega bo'lib, uning izoelektrik nuqtasi pH = 6,7 atrofida. Kazein kalsiy tuzlari bilan birikkan bo'lib, erigan holatda bo'ladi. Sut achiganda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

Reaktivlar	*Jihoz*
xlorid kislotaning 1% li eritmasi, distillangan suv, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, nitrat kislotaning konsentrlangan eritmasi, molibden reaktivi, mis sulfatning 1% li eritmasi.	50 ml kimyoviy stakan, silindrlar, shisha tayoqcha, voronka, filtr qog'ozi.

№	Jarayon		Ball
1	50 ml kimyoviy stakanga 3 ml sut va 7 ml distillangan suv solinadi.		

2	Suyuqliklar aralashtirilib, ustiga 10-15 tomchi 1% li xlorid kislota eritmasi qo’shiladi. Kislota juda ehtiyot korlik 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.	 	
3	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.	 	
4	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 filtrdan o’tkaziladi.	  	
5	Cho`kmani shisha tayoqcha yodamida filtratdan kolbaga o`tkaziladi.		

6	Cho`kmaning bir oz qismini filtrda qoldirib, 10 tomchi 10%-li NaOH va 1 tomchi 1%-li mis sulfat eritmasi qo`shiladi.		
7	Turg`un ko`k-binafsha rang hosil bo`ladi.		
8	Filtrdagi cho'kma qaytar muzlatgichli keng probirkaga olinadi va unga 6 ml 10% li natriy gidroksid eritmasi solinadi. Probirka qum hammomida 1 soat davomida qizdiriladi.		
9	Suyuqlik sovitilgandan 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.		
10	Eritma tindirilgandan so'ng filtrlanadi. So'ngra suyuqlikdan olib, oqsilga xos Biuret va fosfor kislotaga xos molibden reaksiyasi o'tkaziladi.		
11	*Biuret reaksiyasi* - 5 tomchi gidrolizatga 1-2 tomchi natriy gidroksidning 10% li eritmasidan va 2 tomchi mis (II) sulfat tuzining 1% li eritmasidan solinadi.		
12	Hosil bo'lgan binafsha rang oqsil borligini isbotlaydi.		

13	*Molibden reaksiyasi* - 10 tomchi molibden reaktiviga 5 tomchi gidrolizat solib, bir necha daqiqa qaynatiladi.		
14	Eritma och sariq rangga bo'yaladi. Aralashma sovitilgach, sariq rangli kompleks birikma cho'kmaga tushadi. Bu fosfor kislota borligini isbotlaydi. 		

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 2

Mavzu: 2. Oqsillaning tuzilishi. Aminokislotalarga xos rangli reaktsiyalar

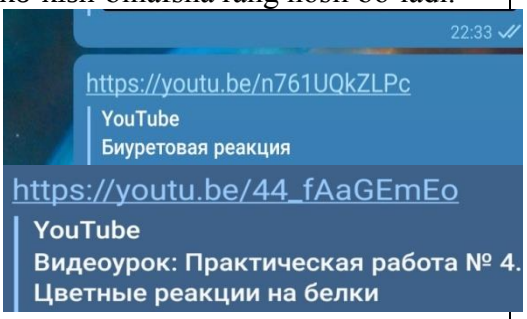
3-amaliy ish. Biuret reaktsiyasi

Oqsil tarkibida ketma-ket joylashgan aminokislotalarning birinchisidagi COOH va ikkinchisining NH_2 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 reaktsiyasini 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.

Reaktivlar	*Jihozlar*
Natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis sulfatning 1% li eritmasi.	Probirkali shtativlar, pipetkalar, tomizgichlar.

№	Jarayon		Ball
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.	 	

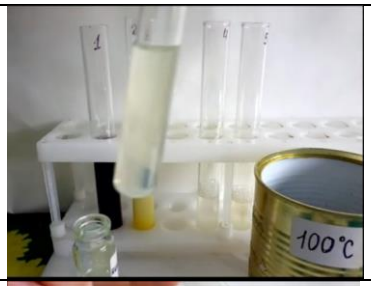
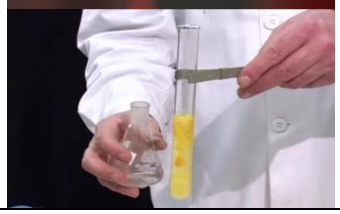
2	Barcha probirkalarga 10 tomchidan natriy gidroksidning 10% li eritmasidan va mis sulfatning 1% li eritmasidan 1 tomchidan tomizilib, aralashtiriladi.		
3	Uchala probirkada qizil-binafsha yoki ko`kish-binafsha rang hosil bo`ladi. 	 	

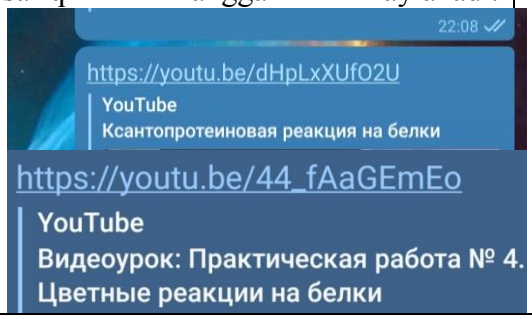
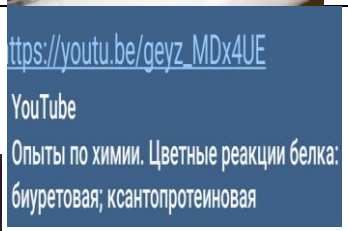
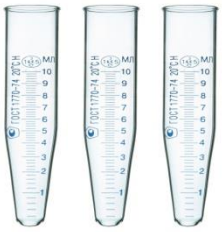
4-amaliy ish. **Ningidrin reaktsiyasi.**

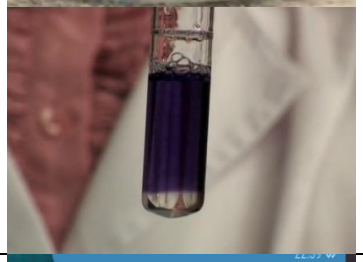
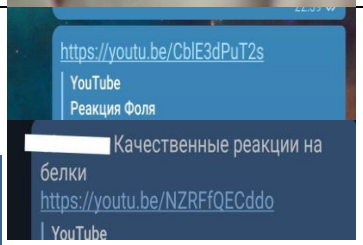
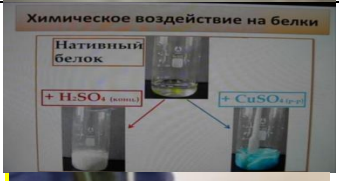
Ningidrin reaktsiyasi aminokislotalarining α-holatida turgan aminoguruhlariga xosdir. Ningidrin kuchli oksidlovchi modda - uning ta'sirida α-aminokislotalarning dezaminlanishi va dekarboksillanishi natijasida CO_2, ammiak va aldegid hosil bo`ladi. Qaytarilgan ningidrin ammiak va ortiqcha ningidrin bilan o`zaro reaktsiyaga kirishib, ko`k-binafsha rangdagi kondensatsiyalangan unumini keltirib chiqaradi.

Reaktivlar	*Jihozlar*
0,1% li ningidrinning spirtli eritmasi, 1% li alanin eritmasi.	Probirkali shtativ, pipetkalar, tomizgichlar.

№	**Jarayon**		***Ball***
1	3 ta probirkaolib, 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 yoki suv hammomiga quyiladi.		
3	Probirkalardagi aralashmalar avval pushti-binafsha yoki ko`kish-binafsha rangga bo`yaladi. Vaqt o`tishi bilan eritma ko`karadi. https://youtu.be/IaY_5TkBxdE YouTube Нингидрин реакциясы - Нингидриновая реакция - 10 кл https://youtu.be/44_fAaGEmEo YouTube Видеоурок: Практическая работа № 4. Цветные реакции на белки		
5—amaliy ish. Aromatik aminokislotaarga reaksiya (Ksantoprotein reaktsiyasi)			
№	**Jarayon**		***Ball***
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`shiladi		
5	Dinitrotirozinni natriyli yoki ammoniyli tuzi hosil bo`lganligi sababli probirkadagi sariq rang to`q sariq rangga aylanadi. 		
№	Jarayon		Ball
6-amaliy ish. Sisteinga reaksiya (Fol reaksiyasi)			
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`shiladi.		
3	2-5 daqiqa davomida qizdiriladi.	 	

4	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.	 	
5	Uchinchi probirkadagi jelatina tarkibida oltingugurtli aminokislotalar yo`qligi uchun cho`kma hosil bo`lmaydi. https://youtu.be/44_fAaGEmEo YouTube Видеоурок: Практическая работа № 4. Цветные реакции на белки		
№	Jarayon		Ball
7-amaliy ish. Shulse-Raspaylya reaktsiyasi Bu reaktsiya oqsil tarkibidagi triptofan qoldig`iga xos reaktsiya bo`lib, bunda triptofan oksimetilfurfurol ta'sirida to`q qizil rangli kondensatsiyalangan unumini hosil qiladi. Oksimetilfurfurol mazkur reaktsiyada saxarozaning konsentrlangan sulfat kislotasi ishtirokida parchalanishidan hosil bo`lgan geksoza (fruktoza) ni unumi hisoblanadi:			
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. https://youtu.be/fU6wSs3Ep48 YouTube Биохимия. Качественные реакции для определения белков, аминокислот и углеводов (С. Смирнов)	 	

	https://youtu.be/44_fAaGEmEo YouTube Видеоурок: Практическая работа № 4. Цветные реакции на белки		

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 1.

Mavzu: Biokimyo faniga kirish. Oqsillar va aminokislotalar biokimyosi. Oqsillarni to`qimalardan va biologik suyuqliklardan ajratib olish.

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 3

Mavzu: Oddiy va murakkab oqsillarning asosiy vakillari. Oqsillar cho`ktirish reaktsiyalari.

11 - amaliy ish. Oqsillarni cho`ktirish reaktsiyalari.

1. Oqsillarni organik kislotalar ta'sirida cho`ktirish

Oqsil eritmasiga organik erituvchilar (spirt, aseton, efir va boshqa) qo`shilganda oqsil cho`kmasi tushadi. Oqsilning tabiatiga qarab cho`kmaga tushiruvchi organik erituvchilarning, masalan, spirtning har xil konsentrasiyasi taqozo etiladi. Cho`kma faqat neytral yoki kuchsiz kislotali muhitda (kuchsiz kislotali sharoitda oqsilning kolloid zarrachalrini zaryadi juda ham pasaygan bo`ladi) va elektrolitlar, masalan, natriy xlorid ishtirokida to`laligicha kuzatiladi. Agarda cho`ktirish jarayoni past haroratda (0-15˚S) bajarilib, cho`kma tezlikda spirtdan ajratilsa, oqsil o`zining tabiiy holatini qayta tiklashi va suvda yana erishi mumkin. Spirtning uzoq davomli ta'siri oqsilni qaytmas denaturatsiyaga olib keladi. Lekin ayrim oqsillar, masalan oshqozon osti bezi gormoni – insulin nordonlashtirilgan 60% li spirtda eriydi. Bu sifat ularning birlamchi strukturasining xususiyatiga bog`liq.

№	Jarayon		Ball
1	Probirkaga 1 ml oqsil eritmasi va shu miqdorda etil spirti qo`shib chayqatilsa, eritma xiralashadi.		
2	Unga 1-2 tomchi to`yingan osh tuzi eritmasi qo`shilsa cho`kma tushishi yanada tezroq bo`ladi. https://youtu.be/f1xNU0fpdw4 YouTube Осаждение белков спиртом		

2. Oqsilni konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida cho`ktirish.

№	Jarayon		Ball

1.	Probirkaga taxminan 1 ml (15-20 tomchi) konsentrlangan nitrat kislotasi va probirkani 45˚ ga engashtirgan holatda, nihoyatda ehtiyotkorlik bilan probirka devori bo`ylab teng hajmda oqsil eritmasi qo`shiladi		
2	Ikkala suyuqlik bir-biriga tegib turgan joyda halqasimon oq amorf cho`kma ko`rinadi (Geller probasi). https://youtu.be/WNjlb0ZJNww YouTube Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами		

3. Oqsillarni ayrim organik kislotalar ta’sirida cho`ktirish

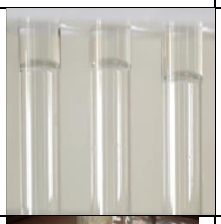
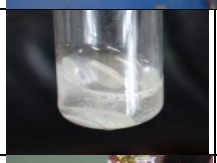
Organik kislotalar eritmadagi oqsilni cho`kmaga tushiradi, ammo ularning ta’siri bir-biridan farqlanadi. Sulfosalisil kislotasi oqsil bilan birga uning gidrolizlangan unumlari – peptonlar va yuqori molekulali polipeptidlarni ham cho`ktiradi. Uchxlorsirka kislotasi esa faqatgina oqsillarni cho`ktiradi, polipeptidlar va kichik molekulali azot saqlovchi oqsil bo`lmagan moddalar eritmada qoladi. Uchxlorsirka kislotasining bu xususiyatidan qondagi oqsil bo`lmagan (qoldiqli) azot miqdorini aniqlashda foydalaniladi. Ular uchxlorsirka kislotasi ta’sirida cho`kkan qon oqsillari filtrlab, ajratib olingandan so`ng filtratda qolgan oqsillar almashinuvi va parchalanishidan hosil bo`lgan moddalar polipeptidlar, aminokislotalar, mochevina, siydik kislotasi va boshqalardan iborat

№	Jarayon		Ball
1	Ikkita probirkaga taxminan 1 ml dan oqsil eritmasi quyiladi.		
2	Birinchi probirkaga 1-2 tomchi sulfosalisil kislotasi, ikkinchisiga shuncha miqdorda uchxlorsirka kislotasi qo`shib, oqsilning cho`kmaga tushishi kuzatiladi. https://youtu.be/fU6wSs3Ep48 YouTube Биохимия. Качественные реакции для определения белков, аминокислот и углеводов (С. Смирнов)		

4. Oqsillarni alkaloidli reaktivlar ta’sirida cho`ktirish.

Oqsillarni alkoloid reaktivlar bilan cho`kishi ular tarkibidagi azotli geterosiklik guruhlarini alkoloid molekulasidagi shu kabi moddalarga (pirrol, indol, imidazol va boshqalar) o`xshashligi tufayli bo`lib, kislotali muhitdaoqsildagi azotli birikmalar bilan suvda erimaydigan tuzlar hosil qilishigaasoslangan. Ishqoriy xossaga ega bo`lgan oqsillar (protaminlar, gistonlar) alkoloidli reaktivlar bilan neytral muhitda cho`kmaga tushiriladi.

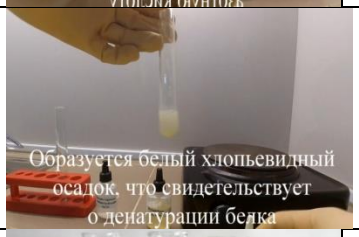
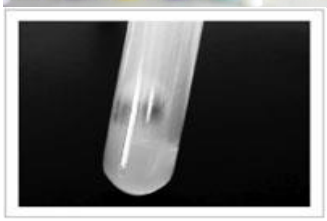
№	Jarayon		B a

			ll
1	3 ta probirkaga 5 tomchidan 1% tuxum oqsili eritmasi solinadi. Birinchi probirkaga 2-3 tomchi 10% li pikrin kislota eritmasi va 1-2 tomchi 1% sirka kislota qo`shiladi.		
2	Sariq rangli oqsil cho`kma hosil bo`ladi.		
3	Ikkinchi probirkaga 1-2 tomchi to`yingan tannin eritmasidan va 1-2 tomchi 1% sirka kislota qo`shiladi.		
4	Kulrang tusli oqsil cho`kmasi hosil bo`ladi.		
5	Uchinchiprobirkaga 1tomchi 10% sirkakislota va2-3 tomchi 5% qizilqontuzieritmasiqo`shiladi. Oqsil cho`kmaga tshadi. https://youtu.be/f1xNU0fpdw4 YouTube Осаждение белков спиртом https://youtu.be/fU6wSs3Ep48 YouTube Биохимия. Качественные реакции для определения белков, аминокислот и углеводов (С. Смирнов)		

5.Oqsillarni og`ir metall tuzlari bilan cho`ktirish

Oqsillar og`ir metall tuzlari (mis, temir, qo`rg`oshin, rux, kumush, simob va boshqalar) ta'sirida suvda erimaydigan kompleks hosil qilib, denaturatsiyaga uchraydilar va cho`kmaga tushadilar. Oqsillarning bu xususiyatidan og`ir metallar (simob, qo`rg`oshin) bilan zaharlanganda, hali metall so`rilib ulgurmasdan, zaharlanishga qarshi dori sifatida foydalanishgaasos bo`lgan. Tuxum oqsili, sut zaharlanishga qarshi ishlatilganda ularni ko`proq berish kerak, chunki ayrim tuzlarning (qo`rg`oshin atsetati, mis sulfat) ortiqcha miqdori oqsillar bilan eruvchan birikma hosil qiladi (peptizasiya). Ayniqsa, simob tuzlari bilan zaharlanganda hosil bo`lgan oqsil cho`kmasi osh tuzi ishtirokida erishi mumkinligini esda saqlash kerak.

Jarayon		Ball
1.	Uchta probirka olib, har biriga 10 tomchidan oqsil eritmasi quyiladi.	
2.	Birinchi probirkaga 1-2 tomchi 5% li mis sulfati, ikkinchisiga 1-2 tomchi 5% li qo`rg`oshin atsetati va uchinchisiga 1-2 tomchi 3% li kumush nitrat oksidi tomiziladi.	

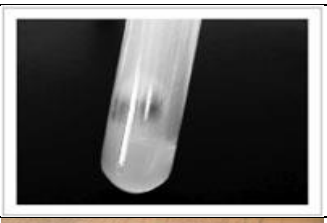
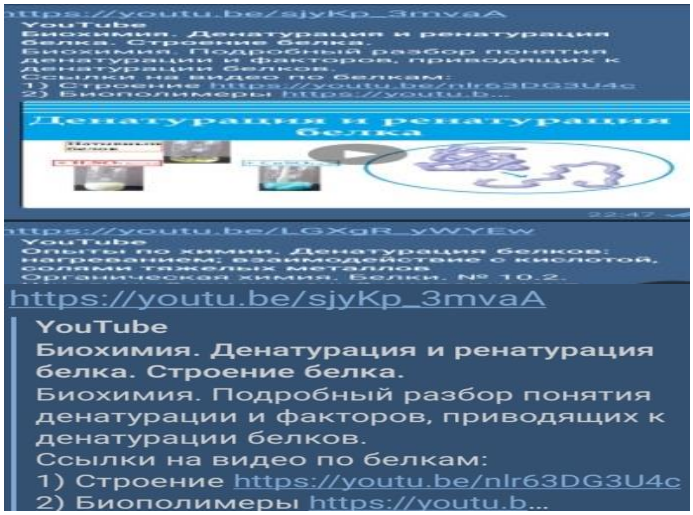
			
3.	Uchala probirkada ham oqsil cho`kmasi hosil bo`ladi.		
4	Uchala probirkaning har biriga o`zini cho`kmaga tushiruvchi eritmasidan yana 5-10 tomchi qo`shib, shisha tayoqcha bilan aralashtirilganda birinchi va ikkinchi probirkalardagi cho`kmani eriganligi (peptizasiya), uchinchi probirkadagi cho`kmani esa erimaganligi kuzatiladi. https://youtu.be/m6-q0IpDQbg YouTube Осаждение белков солями тяжелых металлов https://youtu.be/QlCy41Gad7c YouTube Высаливание белков из растворов , диализ белков	 	

6. Oqsillarni qizdirganda cho`kmaga tushishi.

Reaktivlar	*Jihozlar*
1% li va 10% li sirka kislota eritmasi. Natriy xloridning to`yingan eritmasi. 10% linatriygidroksideritmasi.	Probirkalar. Pipetkalar. Tomizgichlar.

№	Jarayon		Ball
1.	5 ta probirka olib, harbiriga 10tomchidandan oqsil eritmasidanquyiladi.		
2	Birinchi probirkadagi oqsilni neytral eritmasi qizdirilganda dastlab loyqalanadi, qaynaganda cho`kmaga tushadi. Qizdirish ehtiyotlik bilan bajarilib, vaqti-vaqti bilan probirka silkitilib, chayqatib turiladi. Loyqalanishni quyuqlashishi erimagan oqsil zarralarini yiriklashishi bilan tushuntiriladi. Ular zaryadga ega bo`lganliklari uchun erimagan holatda saqlanadilar.		

			
3	Ikkinchi probirkaga 1-2 tomchi 1% li sirka kislotasi tomiziladi, bunda cho`kma hosil bo`lmaydi.		
4	Qizdirish davomida avval loyqalanish, so`ngra qaynaganda oq cho`kma tushadi. Cho`kma hosil bo`lishiga sabab tekshirilayotgan oqsil kuchsiz kislotali muhitda izoelektrik holatida bo`lib, qizdirganda denaturatsiyalanadi va eruvchanligini yo`qotadi.	 	
5	Uchinchi probirkadagi oqsilga 1-3 tomchi 10% li sirka kislotasi tomizilib, kuchli kislotali muhitga o`tkaziladi va qaynaguncha qizdiriladi.		
6	Bunda cho`kma tushmaydi, chunki eritmadagi ortiqcha vodorod ionlari ta'sirida avval manfiy zaryadli bo`lgan oqsil musbat zaryadga o`tib, barqarorlikka ega bo`ladi.		
7	To`rtinchi probirkadagi oqsilga 10% li sirka kislotasidan tomizilib, kuchli kislotali muhitga o`tkaziladi va ustiga 2-3 tomchi osh tuzining to`yingan eritmasidan tomizilib, qaynatganda oq cho`kma hosil bo`ladi. Bunga sabab natriy xlorid ionlarini oqsil zarrachalari adsorbsiya qilishi natijasida oqsilning musbat zaryadi neytrallanadi.	 	

8	Bunga sabab natriy xlorid ionlarini oqsil zarrachalari adsorbsiya qilishi natijasida oqsilning musbat zaryadi neytrallanadi.		
9	Beshinchi probirkadagi oqsilga 2-4 tomchi 10% li o`yuvchi natriy qo`shib, ishqoriy muhit hosil qilinadi.		
10	So`ngra qaynatganda cho`kma hosil bo`lmaydi, chunki ishqoriy muhitda oqsilning asos xossasi yo`qotilib, kislotali xossasi oshadi, oqibatda oqsil molekulasi zarrachalarining manfiy zaryadi yana ham oshadi.   	

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 4

Mavzu: Murakkab oqsillarning asosiy vakillari. Sut tarkibidagi kazein miqdorini aniqlash. So`lak tarkibidagi mutsinni aniqlash. Dializ

8- amaliy ish. Kazeinni gidrolizlash va gidrolizatdagi oqsil va fosfat kislotasini aniqlash.

Aniqlashda fosfoprotein sifatida sut kazeinidan foydalaniladi. Kazein ishqoriy muhitda gidrolizlanganda oqsil va fosfat kislotasiga parchalanadi.

Gidrolizat tarkibidagi oqsil biuret reaktsiyasi bilan, fosfat kislota esa molibden probasi bo`yicha ochiladi. Fosfat ioni ($PO_4^-$) kislotali muhitda ammoniy molibdat bilan ammoniy fosfomolibdatga o`tadi, uning gidroxinon va natriy sulfit ta'sirida qaytarilishi natijasida molibden ko`ki hosil bo`ladi. Rang ravshanligi fosfomolibdat tarkibidagi molibden miqdoriga to`g`ri proporsional bo`lganligi tufayli fosfor miqdoriga ham teng bo`ladi.

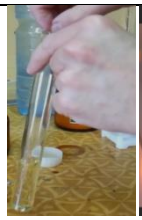
Reaktivlar	*Jihozlar*
O`yuvchi natriyning 10% li eritmasi, mis kuporosining 1% li eritmasi,nitrat kislotaning 25% li yoki konsentrlangan eritmasi, gidroxinonning 2% li eritmasi, sulfit karbonat	Dorixona tarozisi,suv hammomi,5 ml li pipetkalar,qog`oz filtrli shisha

eritmasi,ammoniy molibdatning nitrat kislotadagi eritmasi, quruq kazein kukuni.		voronkalar,probirkalar,tomizgichlar.
№	Jarayon	Ball
1	A. 100 mg maydalangan quruq kazeinga 5 ml 10% li o`yuvchi natriy qo`shilib, 30 daqiqaga vaqti-vaqti bilan chayqatilgan holda qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi.	
2	Sovutilgandan so`ng 10 tomchi gidrolizatga 5 tomchi o`yuvchi natriy eritmasi qo`shilib, ustiga tomchilab 1% li mis sulfat eritmasidan qizil binafsha yoki ko`k binafsha rang hosil bo`lguncha tomiziladi.	
3	Biuret reaktsiyasining ijobiy bo`lishi kazein tarkibida oqsil borligini ko`rsatadi.	
3	B. Fosfat kislotani ochish uchun 20 tomchi gidrolizatga 10 tomchi 25% li azot kislotasi va 10 tomchi ammoniy molibdatning nitrat kislotasidagi eritmasidan qo`shib, 5 daqiqaga qoldiriladi.	
4	Hosil bo`lgan cho`kma filtrlab olinib, tarkibida ammoniyfosfomolibden oksidi tutgan filtratga 10 tomchi 2% li gidroxinon eritmasi tomizilib, 5 daqiqaga qoldiriladi.	
5	So`ngra probirkaga sulfit karbonat eritmasidan 20 tomchisini asta-sekinlik bilan (ko`pik hosil bo`lishini oldini olgan holda) qo`shiladi, eritmani ko`k rangga bo`yalishi fosfat kislotasi borligini bildiradi.	

9-amaliy ish. So`lakdan musinni ajratib olish va uning tarkibidagi oqsilga - biuret, uglevod guruhlariga naftol – reaktsiyalari.

Reaktivlar	*Jihozlar*
Sirka kislotasining 1% li eritmasi,o`yuvchi natriyning 10% li eritmasi,mis sulfatining 1% li eritmasi,konsentrlangan sulfat kislotasi,α-naftolning spirtdagi 1% li eritmasi.	Shisha tayoqchalar, probirkalar, tomizgichlar.

№	Jarayon		Ball
1	Probirkaga 5-10 ml so`lak quyilib, shisha tayoqcha bilan aralashtirilib turilgan holatda teng hajmda 1% li sirka kislortasi eritmasidan qo`shilganda musin cho`kmasi hosil bo`ladi.		
2	Musinni shisha tayoqcha bilan ushlab turilgan holda probirkadagi suyuqlik olib tashlanadi.		
3 a)	So`ngra musin cho`kmasi suv bilan yuvilib, ikki qismga bo`linadi va ular bilan oqsil va uglevodlarga xos reaktsiyalar qilinadi. Musin tarkibidagi oqsilni ochish uchun probirkaga musin cho`kmasining bir qismi solinib, ustiga aralashtirilib turilgan holatda 10% li o`yuvchi natriydan cho`kma eriguncha qo`shiladi va biuret reaktsiyasi musinni oqsil tabiatli ekanligini tasdiqlaydi.	 	
b)	Musin uglevodlari naftol probasi (Podobedov-Molish reaktsiyasi) yordamida ochiladi. Reaktsiya sulfat kislotasining geksozalar bilan hosil qilgan oksimetilfurfurolni α-naftol bilan o`zaro ta’sirlanishiga asoslangan bo`lib, bunda ularning kondensatsiyalangan rangli unumi hosil bo`ladi.	 	
v)	Musin cho`kmasining ikkinchi yarmiga 10-20 tomchi α-naftolning spirtdagi 1% li eritmasidan qo`shilib, aralashtiriladi va probirka devori bo`ylab teng hajmda konsentrlangan sulfat kislotasi qo`shilganda suyuqliklar bo`lingan chegarasida asta-sekin qizg`ish-binafsha halqa paydo bo`lishi musin tarkibida uglevod komponenti borligini tasdiqlaydi. Probirka 1 soatga qoldirilganda		

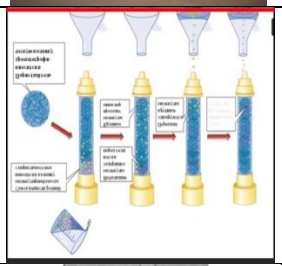
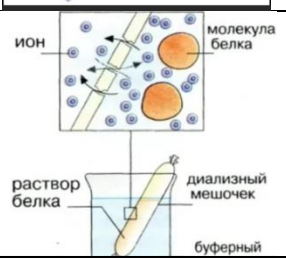
	bo`yalgan halqa oq fonda aniq ko`rinadi. Ushbu reaktsiya tarkibidagi uglevod saqlagan har qanday birikma bilan ijobiy natija beradi. https://youtu.be/fU6wSs3Ep48 YouTube Биохимия. Качественные реакции для определения белков, аминокислот и углеводов (С. Смирнов) Готовимся к практическому туру Всероссийской олимпиады по биологии!		

10-amaliy ish. Oqsillar dializi.

Yuqori molekulali birikmalar kolloid eritmalarini yarim o`tkazuvchan membranalar yordamida past molekulali organik va anorganik aralashmalarda najratishga **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`taolmaydi (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.

Reaktivlar	*Jihozlar*
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.	100 ml hajmli stakan, 125x125 mmli sellofan, shisha tayoqcha, rezinali bog`lagichlar, probirkalar, pipetkalar.

№	Jarayon		Ball
1	5 ml 1% li tuxum oqsili yoki 1% li qon zardobiga 1-2 tomchi ammoniy sulfat tuzi qo`shib, aralashtiriladi.		
2	Sellofan xaltachaga (dializator)ning 1/3 hajmiga qadar tuxum oqsilining ammoniy sulfat aralashgan eritmasidan quyiladi.		
3	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		

3	Dializ boshlanishidan bir soat o`tgandan so`ng stakandagi suvdan (dializat) 10-15 tomchidan ikkita probirkaga olinadi. Birinchisi bilan oqsilga biuret reaktsiyasi, o`tkaziladi.		
4	Ikkinchisiga 3-5 tomchi bariy xlorid qo`shib, sulfat ioniga sifat reaktsiyasi o`tkaziladi.		
5	Aynan shu reaktsiyalar xaltacha ichidagi oqsil bilan ham qaytariladi, so`ngra dializat (tashqaridagi suyuqlik) va dializlanayotgan suyuqlikdan olib, oqsil va sulfatlarga xos reaktsiyalar bajariladi, tuz tashqariga chiqqani va oqsil xaltachaning ichida qolganiga ishonch hosil qilinadi. https://youtu.be/QlCy41Gad7c YouTube Высаливание белков из растворов , диализ белков		

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 5

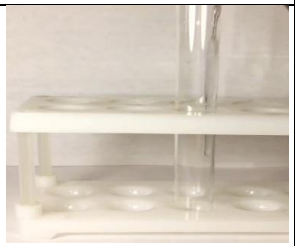
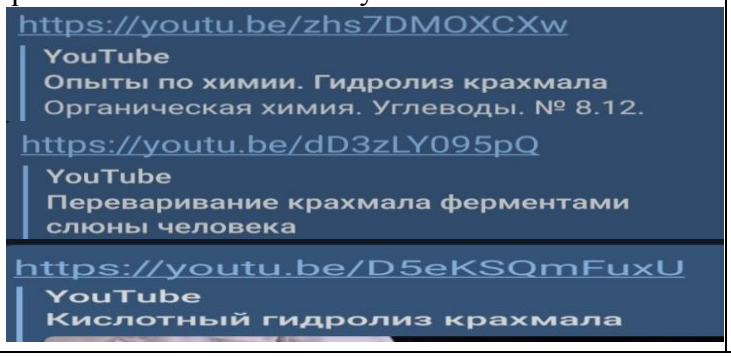
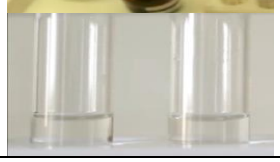
Mavzu: Fermentlarning struktura funktsional tuzilishi. Kraxmalni gidrolizlash.

14-amaliy ish. Kraxmalni xlorid kislota ta’sirida gidrolizlash.

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

Reaktivlar	*Jihozlar*
10% li xlorid kislota, Lyugol eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis (II) sulfatning 1% eritmasi, distillangan suv.	Shtativ, probirkalar, pipetkalar, suv hammomi, nay o’tkazilgan probka.

№	Ish tartibi		Ball
1	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. Ikkinchisga 10 ml 10% li natriy gidroksid, 5 tomchi 1% li mis sulfat eritmasi qo’shib qizdiriladi. Trimmer reaksiyasi natijasida probirkadagi suyuqlik ko’k rangga kirsa, kraxmal gidrolizlanmagani, har ikkala probirkadagi suyuqlik sariq yoki qizil rangga kirishi kraxmal gidroliz bo’lganini bildiradi.		

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

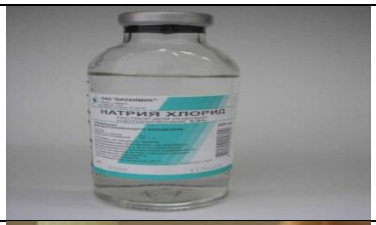
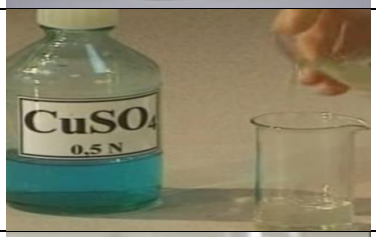
LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 6

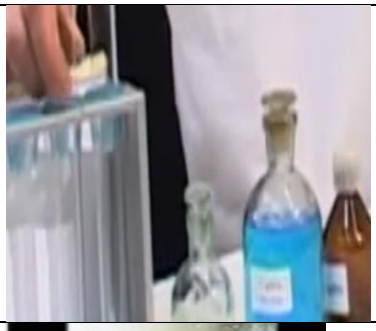
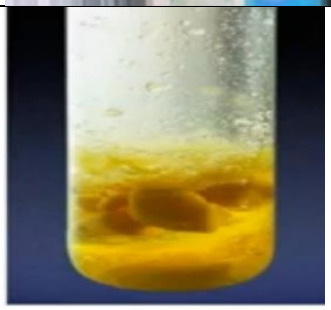
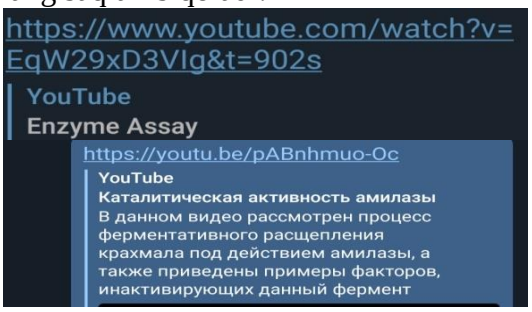
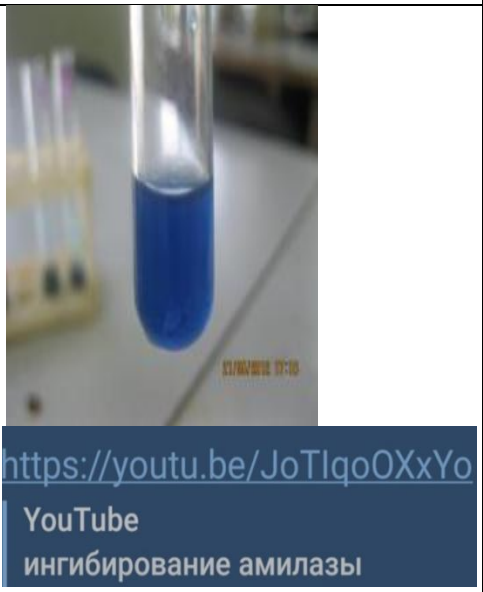
Mavzu: Fermentlarning ta`sir etish mexanizmi. So`lak α-amilazasi faolligini aktivator va ingibitorlarning ta'siri.

Amaliy ish -19. So`lak α-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.

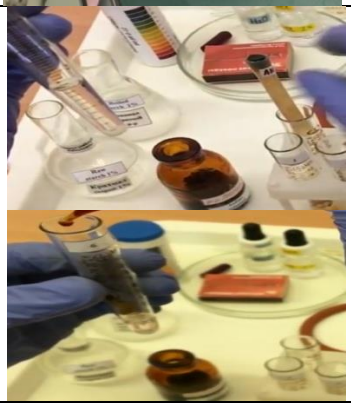
Reaktivlar	*Jihozlar*
Natriyxloridning 1% lieritmasi, missulfatning1% lieritmasi, kraxmalning 0,5% lieritmasi, yodningkaliyyodiddagieritmasi .	Probirkalar, tomizgichlar, pipetkalar, termostatyokitermometrlisuvhammomi.

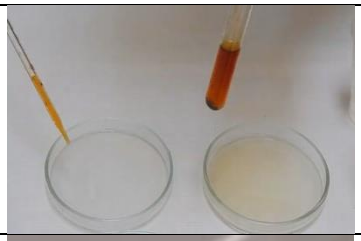
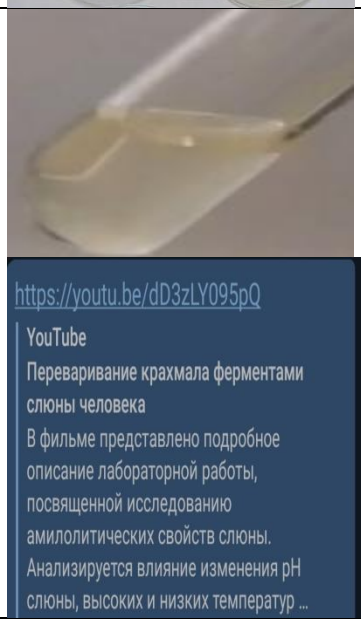
№	Jarayon		Bal l
1	Uchta probirka olinib, birinchisi 10 tomchi 1% li natriy xlorid eritmasidan solinadi		
2	ikkinchisiga 10 tomchi 1% li mis sulfat eritmasidan solinadi		
3	uchinchisiga 10 tomchi suv quyiladi		
4	Hammasiga 20 tomchidan 0,5% li kraxmal va 1 tomchidan suyultirilgan so`lak qo`shilib, aralashtiriladi.		

5	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 reaktsiya o`tkaziladi.		
6	Xlor ionlari bo`lgan probirkada sariq rang paydo bo`ladi		
7	Suv solingan probirkada binafsha yoki qizil-qo`ng`ir rang hosil bo`ladi.		
10	Mis ionlari bo`lgan probirkada ko`k rang saqlanib qoladi. 		

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 7

Mavzu: Fermentativ reaktsiyalar kinetikasi. So`lak α-amilazasining termolabilligi.

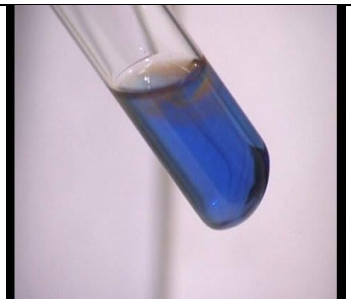
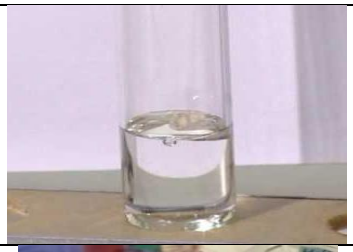
<table>
<tr><th colspan="4">Amaliy ish - 17. So`lak α-amilazasining termolabilligi</th></tr>
<tr><td colspan="2">Reaktivlar</td><td colspan="2">Jihozlar</td></tr>
<tr><td colspan="2">Kraxmalning yangi tayyorlangan 1% li eritmasi, yodning kaliy yodiddagi eritmasi, o`yuvchi natriyning 10% li eritmasi, mis sulfatining 1% li eritmasi.</td><td colspan="2">Probirkalar, pipetkalar, termostat yoki termometrli suv hammomi, shisha tayoqchalar, tomizgichlar.</td></tr>
<tr><td>№</td><td>Jarayon</td><td></td><td>Ball</td></tr>
<tr><td>1</td><td>Probirkaga 2 ml ga yaqin suyultirilgan so`lakdan solinib, 2-3 daqiqa davomida qaynatiladi va sovutiladi.</td><td>  </td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Ikkita probirkaga 10 tomchidan 1% li kraxmal eritmasi qo`yilib, birinchisiga 10 tomchi suyultirilgan so`lak, ikkinchisiga 10 tomchi qaynatilib sovutilgan so`lakdan tomiziladi.</td><td>  </td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Probirkalar ichidagilari aralashtirilib, 10 daqiqaga 37˚S li termostatga qo`yiladi.</td><td>  </td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>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.</td><td>  </td><td></td></tr>
</table>

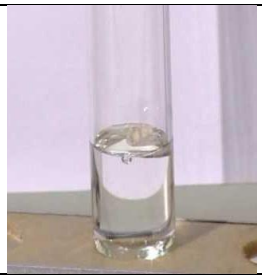
			
5	Ikkala probirkada qolgan suyuqliklardagi kraxmalga Trommer reaktsiyasi o`tkazilganda, qaynatilmagan so`lakli namunada ijobiy va oldindan qaynatilgan so`lak ta'sirida esa manfiy reaktsiya kuzatilgan. https://youtu.be/CWt7Lg-QhjM YouTube Effect of temperature on Amylase To study the effect of temperature on the activity of salivary amylase. https://youtu.be/ylhA84Uyb_A YouTube Practical 4.2 Investigation of the effect of temperature on enzyme activity	 https://youtu.be/dD3zLY095pQ YouTube Переваривание крахмала ферментами слюны человека В фильме представлено подробное описание лабораторной работы, посвященной исследованию амилолитических свойств слюны. Анализируется влияние изменения pH слюны, высоких и низких температур ...	

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 8

Mavzu: Fermentlar ta`sirining o`ziga xosligi. Fermentlar faolligining boshqarilishi. So`lak α-amilazasining spesifikligi.

**Amaliy ish 10. So`lak α-amilazasining spesifikligi** Saxaroza gidrolizlanganda glyukozani bo`shatilgan aldegid guruhi bilan fruktozaning keton guruhi ijobiy Trommer reaktsiyasini kelib chiqishini asoslaydi. Shuning uchun Trommer reaktsiyasi yordamida saxarozani gidarolizga uchragan yoki uchramaganligini aniqlash mumkin. Fermentlar ta'sirining spesifikligini o`rganishda achitqi tarkibidagi saxarozadan foydalaniladi.		
Reaktivlar		*Jihozlar*
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.		Probirkalar, pipetkalar, termostat yoki termometrli suv hammomi
№	Jarayon	Ball
1	Saxaroza eritmasi bilan Trommer reaktsiyasi 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 reaktsiyasi 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 reaktsiyasi 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 reaktsiyasi manfiy natija beradi, demak kraxmal saxarazaning substrati bo`la olmaydi.		

	https://youtu.be/d3eQTPI3he4 YouTube Инактивация ферментов высокой температурой и специфичность действия ферментов ВУЗ: Национальный университет Узбекистана Биологический факультет Кафедра: биохимии Предмет: биохимия и гигиена Тема: Инактивация ферментов высокой...		

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 9

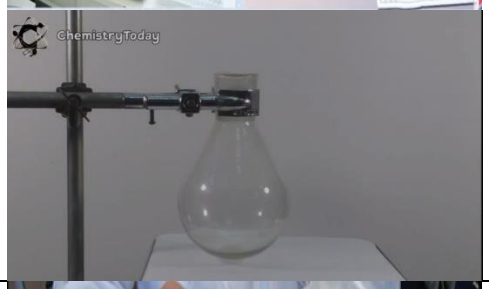
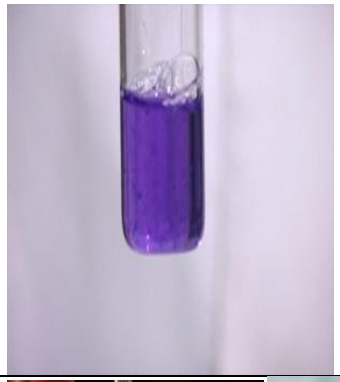
Mavzu: Nuklein kislotalarning tuzilishi va vazifalari. Nukleoproteinlarining tarikbiy komponentlariga reaktsiya.

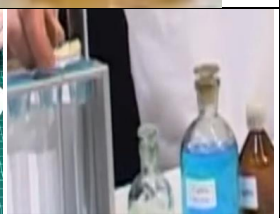
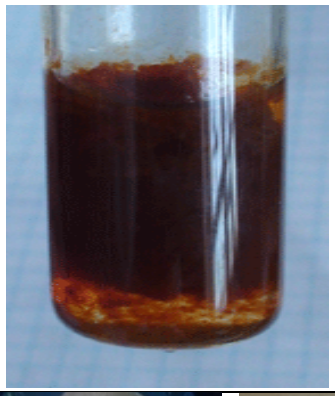
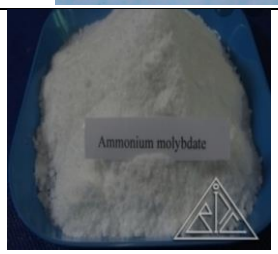
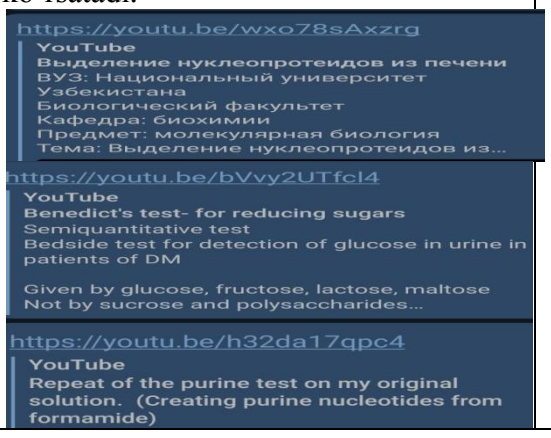
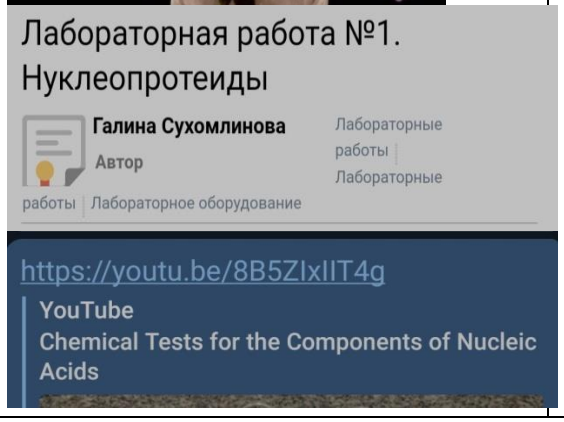
Amaliy ish - 20. Achitqi nukleoproteinlarining kislotali gidrolizi va ular tarikbini aniqlash

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 reaktsiyalari bilan ochiladi.

Reaktivlar	*Jihozlar*
Sulfat kislotaning 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 kislotadagi eritmasi, floroglyusinning 30% li xlorid kislotasidagi 2% li eritmasi, magniy sulfat tuzining 5% li eritmasi, ammoniy xloridning 10% li eritmasi, lakmus qog`ozi.	Dumaloq tagli kolba tiqini bilan, sovutgichli shisha truba, 50 yoki 100 ml o`lchamli silindr, filtrli voronkalar, probirkalar, tomizgichlar, pipetkalar, apteka tarozisi.

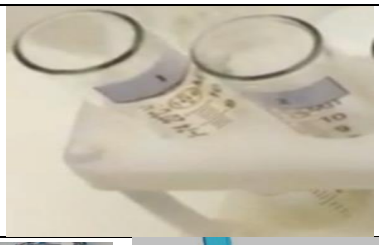
№	Jarayon		Ball
1	100 ml li dumaloq tagli kolbaga 5 g yangi achitqi yoki 1 g quritilgani solinib, ustiga 40 ml 5% li sulfat kislota eritmasi qo`shiladi.	 	

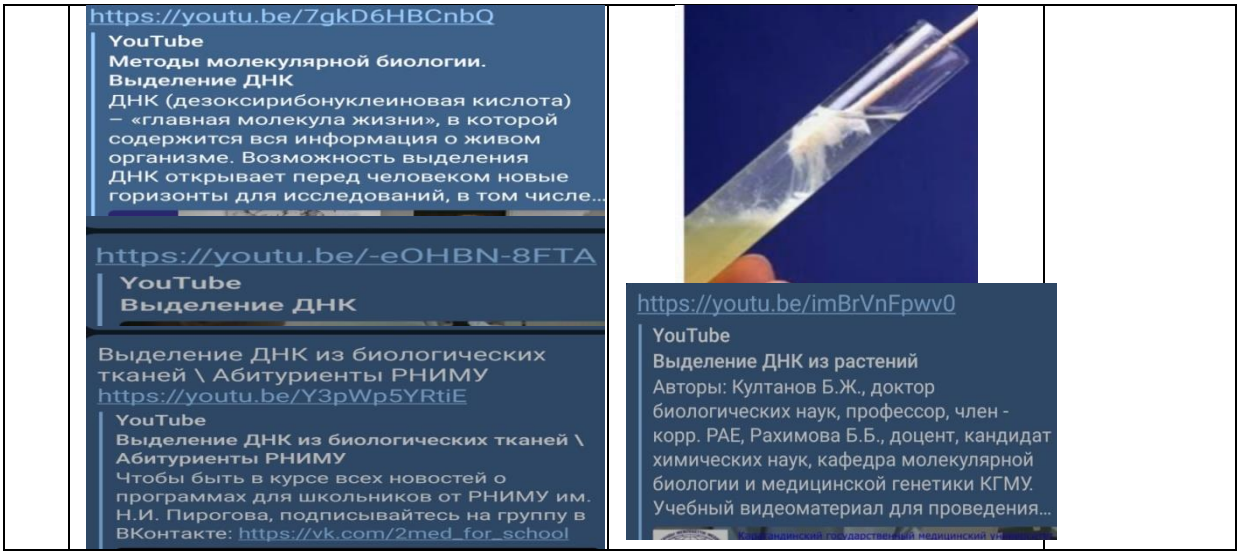
2	Teskari sovutgichli kolba tiqin (probka) bilan berkitilib, shtativga o`rnatiladi va havo tortuvchi shkafda asbest to`ri ustida 1-1,5 soat davomida ehtiyotkorlik bilan qaynatiladi.	 	
3	So`ngra kolbadagi sovutilib, o`lchamli silindrga quyiladi va distillngan suv bilan suyuqlik avvalgi hajmiga yetkaziladi. Olingan eritma filtrlanadi.		
4	oqsil, polipeptid, purin asosolari, uglevod, fosfat kislotasiga reaktsiya qilinadi. a) <u>oqsil va polipeptidlar biuret reaktivi</u> bilan ochiladi. 5 tomchi gidrolizatga 10% li o`yuvchi natriy eritmasidan ishqoriy reaktsiyagacha (taxminan 10 tomchi) va mis kuporosidan tomchilab (1-2 tomchi) qizil-binafsha yoki och pushti rang hosil bo`lguncha tomiziladi;		
5	b) <u>purin asoslariga kumush tajribasi</u> o`tkaziladi. 10 tomchi gidrolizatga lakmus bo`yicha ishqoriy reaktsiyaga 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;	 	
6	v) <u>uglevodlarni (pentoza) aniqlashda orsin va floroglyusin bilan Trommer reaktsiyasi</u> o`tkaziladi. Bu reaktsiyada 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 reaktsiyasini bermaydi.	 	
7	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.	  	
8	d) <u>fosfat kislotasi molibden reaktivi va magneziya aralashmasi bilan ochiladi</u>. Molibden reaktivi bilan aniqlashda 10 tomchi gidrolizatga teng hajmda ammoniy molibden oksidining azot kislotasidagi eritmasidan qo`shib, bir necha daqiqa qaynatiladi.	 	
9	Probirka suv oqimida sovutilganda sariq limon rangli ammoniy fosfornomolibden oksidi kompleksini kristalli birikmasi cho`kmaga tushganligi kuzatiladi,bu esa gidrolizatda fosfat kislotasi borligini ko`rsatadi.	  	

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 10

Mavzu: Replikatsiya va transkriptsiya. DNK miqdorini aniqlash usullari.

21- amaliy ish.DNK miqdorini kolorimetrii usul bilan aniqlash		
Reaktivlar	*Jihozlar*	
difenilamin reaktivi, diefenilamin reaktivi, distillangan suv	probirkalar, shtativ, pipetkalar, FEK, 0,5 sm kyufetalar difenilamin reaktivi, diefenilamin reaktivi, distillangan suv	
№	Ish tartibi	Ball
1	Bitta tekshiruv va bitta nazorat probirkasi tayyorlanadi. Birinchisiga DNKning suvli eritmasidan 1 ml, ikkinchisiga 1 ml distillangan suv solinadi	
2	Har ikkala probirkaga 2 ml dan difenilamin reaktivi solib, 10 daqiqa suv hammomida ushlab turiladi.	 
3	Bir ozdan so’ng probirkalardagi suyuqliklar sovitiladi va FEKning qizil nur filtrida nazorat suyuqligi qarshisida ko’riladi. Tekshiriluvchi DNKning optik zichligini topgach, o’lchov egri chizig’idan uning miqdori aniqlanadi.	
4	*O’lchov egri chizig’ini tayyorlash* 3 ta probirkaga konsentrasiyasi turlicha (50, 100, 200 mkg/ml) DNK eritmasidan 1 ml va difenilamin reaktividan 2 ml solinadi.	 
5	10 daqiqa qaynab turgan suv hammomida qizdiriladi. Eritma sovitilgach, yuqoridagidek fotoelektrokolorimetrlanadi. Topilgan optik zichlik va DNK miqdoridan o’lchov egri chizig’ituziladi.	



LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 11

Mavzu: Oqsil biosintezi. DNK va RNK miqdorini aniqlash usullari.

22- amaliy ish.Kolorimetrik usul bilan RNK miqdorini aniqlash			
Reaktivlar		*Jihozlar*	
orsin reaktivi, distillangan suv		probirkalar, shtativlar, pipetkalar, FEK, 0,5 sm kyuvetalar.	
Ish tartibi			
№			Ball
1	Tekshiruv tajriba probirkasiga 1 ml RNK eritmasiva 2 ml orsin reaktivi solinadi.		
2	Nazorat probirkasiga esa 1 ml distillangan suv va 2 ml orsin reaktivi solinadi.		
3	Ikkala probirka suv hammomida 20 daqiqa tutib turiladi		

4	Bir ozdan so'ng eritmalar sovitilib, FEKning qizil nur filtrda nazorat probirkasi qarshisida optik zichlik topiladi. RNKning miqdori o'lchov egri chizigidan aniqlanadi.		
5	O'lchov egri chizig'initayyorlash. 3 ta probirka 1 ml dan 50, 100, 200mkg/ml RNK eritmasi va 2 ml dan orsin reaktivi solinadi		
6	suv hammomida qizdiriladi, 20 daqiqa o'tgach, eritmalar sovitilib, FEKda ularning optik zichligi aniqlanadi. https://www.youtube.com/watch?v=3dbQIr0q9sc YouTube RNA Estimation by Orcinol Method https://youtu.be/V6YC97Dj5E0 YouTube ДНК и РНК · нуклеиновые кислоты · строение и функции ДНК и РНК - нуклеиновые кислоты, которые выполняют функцию хранения и реализации генетической информации во всех живых организмах.	 	

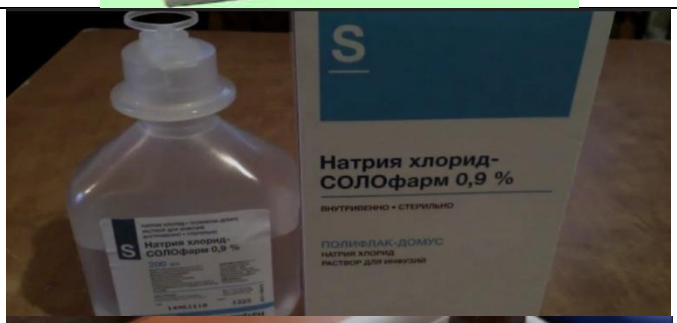
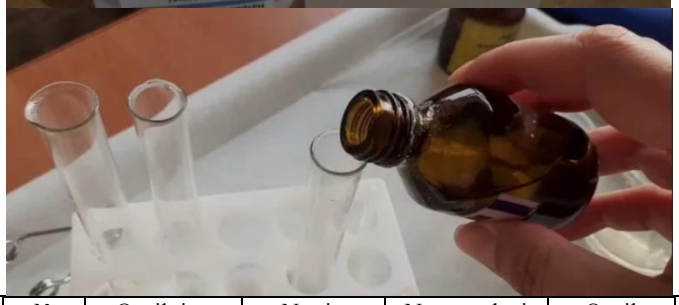
LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 12

Mavzu: Oqsil biosintezini boshqarilishi. Qon zardobi oqsillarining umumiy miqdorini Biuret reaktsiyasi bo`yicha aniqlash.

13 – amaliy ish. Qon zardobi oqsillarining umumiy miqdorini Biuret reaktsiyasi bo`yicha aniqlash

Qon zardobi oqsillari ishqoriy muhitda mis sulfat bilan reaktsiyaga kirishib, peptid bog`lari hisobiga mis ionlarining binafsha rangli kompleks birikmasini hosil qiladi. Eritma rangi jadalligi undagi oqsil miqdoriga bevosita bog`liq.

Reaktivlar	*Jihozlar*
Biuret reaktivining ishchi eritmasi, asosiy eritmadan tayyorlangan,0,9% li natriy xlorid eritmasi,albuminning (odam yoki buqa zardobidan olingan), 0,9% natriy xlorid eritmasidagi 10% li eritmasi, ya'ni 1 ml eritmada 0,1 g oqsil bor.	Mikropipetkalar, 1 va 5 ml hajmdagi pipetkalar,fotoelektrokolorimetr,probirkali shtativ.

<table>
<tr><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>№</td><td>Ish tartibi</td><td>Ball</td></tr>
<tr><td>1</td><td>0,1 ml qon zardobiga 5 ml biuret reaktivining ishchi eritmasidan sekinlik bilan (ko`pik hosil bo`lishini oldini olib) qo`shib, aralashtiriladi.</td><td>   </td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>30 daqiqadan so`ng (bir soatdan kechiktirmay) eritma zichligini FEK da qalinligi 1 sm li kyuvetalarda 540-560 nm to`lqin uzunligida (ko`k svetofiltr) nazoratga nisbatan o`lchanadi.</td><td>  </td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Bir vaqtning o`zida nazorat tekshirishlari o`tkazish uchun 0,1 ml 0,9% li natriy xlorid eritmasiga 5 ml ishchi biuret reaktividan qo`shiladi va davomi tajriba ishlari singari o`tkaziladi. Nazorat ikkita probirkada bajarilib, fotometrlash oldidan ikkala probirkadagi suyuqlik aralashtiriladi va ikkita kyuvetaga quyiladi.</td><td>   </td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Hisoblash kalibrlash egri chizig`i bo`yicha o`tkaziladi. Uni tuzishda albuminning 10% li ishchi eritmasidan jadvalda ko`rsatilganidek standart eritmalar tayyorlanadi.</td><td>
<table>
<tr><td>№ pro-birka</td><td>Oqsilning standart eritmasi, ml</td><td>Natriy xloridning 0,9% eritmasi, ml</td><td>Namunadagi oqsil miqdori, g</td><td>Oqsil miqdori, %</td></tr>
<tr><td>1.
2.
3.
4.</td><td>0,4
0,6
0,8
1,0</td><td>0,6
0,4
0,2
-</td><td>0,04
0,06
0,08
0,10</td><td>4
6
8
10</td></tr>
</table>
</td><td></td></tr>
</table>

5	Har bir suyuqliklardan 0,1 ml dan ishchi eritma olib, 5 ml dan ishchi biuret reaktividan qo`shiladi, 30-60 daqiqadan so`ng tajriba namunasining optik zichligi nazoratga nisbatan FEK da o`lchanadi. Olingan natijalar asosida kalibrlash grafigi tuziladi. Normada oqsil – 6,5-8,5%. https://youtu.be/bi2LtNh5h50 YouTube Biuret's Test - Qualitative Test in Proteins Pharmacological Lab Procedures: Biuret's Test https://youtu.be/1kTbPx0WFiA YouTube Estimation of Total Protein by Biuret Method || Total Protein Estimation || Biochemistry Practical	   **Eslatma.** **1.** Oqsilning standart eritmadagi miqdori 7% dan kam bo`lmasligi kerak. **2**. Zardobdagi oqsil miqdori 10% dan ortiq bo`lganda zardob fiziologik eritma bilan suyultiriladi, natijalar esa suyultirish koeffisientiga ko`paytiriladi. Ishni rasmiylashtirishda kalibrlash grafigi bo`yicha aniqlangan oqsil miqdori jadvalda keltiriladi. Xulosada topilgan oqsil miqdori normadagi ko`rsatkichi bilan taqqoslanadi.	

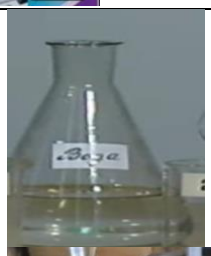
LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 13

Mavzu: Moddalar va energiya almashinuvi. Piruvatni miqdorini aniqlash.

26- amaliy ish. Qon tarkibidagi piruvat (pirouzum kislotasi) miqdorini aniqlash

Pirouzum kislotasi uglevodlar almashinuvining markaziy metabolitlaridan hisoblanadi. Glikoliz va glikogenoliz jarayonida sut kislotasidan, bir qator aminokislotalar va gliserindan hosil bo`lgan pirouzum kislotasi organizmni energetik ehtiyojiga qarab hujayralarda asetil – KoAgacha oksidlanib, Krebs sikliga kirishi yoki boshqa moddalar biosintezida (laktat, oksaloatsetat, sirka kislotasi, aminokislotalar va boshqalar) qatnashishi mumkin. Normada qondagi pirouzum kislotasining miqdori 0,1 – 0,13 mmol/l ga to`g`ri keladi. Ushbu ko`rsatkichni organizmda tiamin (vitamin B_1) yetishmovchiligida, piruvatdegidrogenaza kompleksi faolligi ingibirlanganda bir qator kasalliklar (diabet, jigar kasalligi yurak faoliyati buzilishi)da ortishi kuzatiladi.

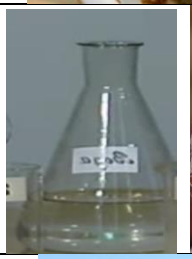
Pirouzum kislotasini miqdoriy aniqlash 2,4-dinitrofenil gidrozinning (2,4-DNFG) pirouzum kislotasi bilan reaktsiyaga kirishib, 2,4-dinitrofenilgidrozonni hosil qilishiga asoslangan. U boshqa gidrozonlardan farqli o`laroq, toluolda yaxshi eriganligi uchun uni reaksion aralashmadan oson ekstraksiya qilib olish mumkin. Piruvatning toluolli ekstraktiga ishqorning spirtli eritmasi qo`shilganda pirouzum kislotasining 2,4- dinitrofenilgidrozoniga xos qizil-sarg`ish rang paydo bo`ladi. Rangning jadalligi tekshirilayotgan eritmadagi pirouzum

kislotasining miqdoriga to`g`ri proporsional:		
Reaktivlar	*Jihozlar*	
Uchxlorsirka kislotasining (UXSK) 5% li eritmasi, 2,4 – dinitrofenilgidrazinning 2 mol/l xlorid kislotasi eritmasidagi 0,1%li eritmasi,toluol, natriy karbonatning 10% li eritmasi, natriy gidroksidning 1,5 mol / l eritmasi.	Probirkalar, 1 va 5 ml – hajmdagi pipetkalar,25 ml hajmdagi byuretka, sentrifuga, FEK .	
№	Ish tartibi	Ball
1	Tahlil uchun 1 ml biologik suyuqlik (qon, siydik) yoki 1 g to`qima olinadi. Agar tekshirishga to`qima olinsa, u 10-15 daqiqa davomida 5% li sovutilgan uchxlorsirka kislotasining 1:9 nisbatdagi eritmasida hovonchada yaxshilab eziladi, so`ngra tezligi daqiqasiga 3000 marta aylanishda 10 daqiqa sentrifugalanadi.	 
2	To`qimaning oqsilsiz qismidan (filtrat) 1 ml, nazorat sifatida 1 ml distillangan suv probirkalarga olinadi. Tahlil qilinayotgan har bir namunadan 2-3 ta parallel namuna olish maqsadga muvofiqdir. Tajriba va nazorat uchun olingan probirkalardagi suyuqliklarga 0,5 ml dan 2,4-dinitrofenilgidrazin eritmasidan quyib, aralashtiriladi, 5 daqiqadan so`ng suv bilan to`yintirilgan toluoldan 2,5 ml qo`shilib, 1-2 daqiqa chayqatiladi.	    
3	Eritma qavatlarga ajralgach, toza probirkaga ustki toluolli qatlamidan 1ml olib, ustiga 2 ml kaliy gidroksidining 2,5 % li spirtdagi eritmasidan qo`Shiladi va 15 daqiqadan so`ng FEK ko`k svetofiltrida ( 465 nm to`lqin	 

	uzunligida) fotometrlanadi.		
4	Hisoblashda kalibrlash egri chizig`idan foydalaniladi. Buning uchun bir nechta raqamlangan probirkalar olib, pirouzum kislotasining standart eritmasidan 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 va 1,0 ml quyiladi va ularning har birini umumiy hajmi 1 ml ga etguncha distillangan suv qo`shiladi. Standart eritmalar bilan qolgan ishlar yuqorida keltirilganidek bajariladi.		
5	Kalibrlash egri chizig`i chizish uchun ordinata o`qiga o`lchangan optik zichlik, absissa o`qiga pirouzum kislotasining mg dagi konsentrasiyasi qo`yiladi. Hisoblash kalibrlash grafigi asosida, suyultirish darajasini hisobga olgan holda bajariladi. Ish natijasini rasmiylashtirishda topilgan pirouzum kislotasi miqdorini o`zgarish sabablari to`g`risida xulosa chiqariladi. https://www.youtube.com/watch?v=vjaBYWw35hg YouTube L-Lactic Acid (L-Lactate) Assay Procedure (K-LATE) Megazyme's L-Lactic Acid (L-Lactate) Assay Kit is used for the specific measurement and analysis of L-lactic acid (L-lactate) in beverages, meat, dairy and food products.	 https://www.youtube.com/watch?v=Q5FmzQrKCbY YouTube LDH Procedure | LDH Reagent Test This video describes the procedure for performing LDH Reagent Test from Serum sample by Anamol Laboratories Private Limited India. https://www.youtube.com/watch?v=dEsrxeKczGo&t=73s YouTube Assay for LDH enzyme activity using Human Kit Heart Marker	

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 14
Mavzu: Krebs sikli. Mushak suksinatdegidrogenaza faolligini aniqlash.

1-amaliyish.Mushak suksinatdegidrogenaza faolligini aniqlash		
Reaktivlar		*Jihozlar*
qahrabo kislotaning 1% li eritmasi, dixlorfenolindofenolning 0,1% li eritmasi, distillangan suv.		probirkalar, shtativlar, voronkalar, shisha tayoqchalar, chinni hovoncha, doka filtrlar, suv hammomi yoki termostat
№	Ish tartibi	Ball

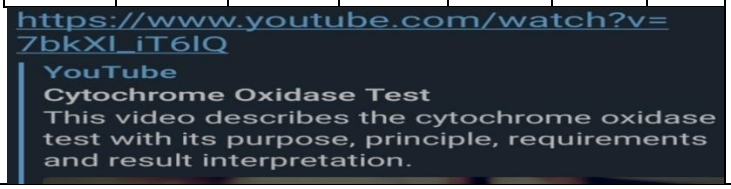
1	1-2 g yangi mushak to’qimasi qaychi yordamida maydalanadi va chinni hovonchada suv bilan eziladi.		
2	Hosil bo’lgan mushak qiymasi ikki qavatli doka orqali voronkadan o’tkaziladi. Qiyma 25 ml suvda yuviladi.	 	
3	Yuvilgan mushak qiymasi toza probirkaga olinadi va ustiga 4 ml suv solib shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi.		
4	Probirkadagi aralashma 4 qismga bo’linadi.		
5	Birinchi probirkadagi mushak fermentining faolligi qaynatish yo’li bilan yo’qotiladi.		
6	Birinchi va ikkinchi probirkaga 1,0 ml suksinat, 0,5 ml distillangan suv va dixlorfenolin dofenoldan 2 ml solinadi.		
7	Uchinchi probirkaga 1,5 ml suv va 2 ml dixlorfenolin dofenoldan solinadi.		
8	To’rtinchi probirkaga 0,5 ml suksinat, 1 ml malonat va 2 ml dixlorfenolin dofenoldan solinadi.		

9	Probirkadagi suyuqliklar aralashtirilib, 15 daqiqa 37°Cli termostat yoki suv hammomiga qo'yiladi. Dixlorfenolindofenolning rangsizlanishi kuzatiladi. 15 minut o'tgandan so'ng faqat 2-probirkada ko'k rangni yoqolganini ko'rish mumkin. https://www.youtube.com/watch?v=pJAi-xLICJw YouTube Laboration Succinatdehydrogenas Den här filmade laborationen visar hur aktiviteten hos enzymet succinatdehydrogenas undersöks. I dina laborationsinstruktioner återfinner du alla de olika volymerna av lösningarna som används. https://youtu.be/vmsMILCKGFU YouTube Цикл Кребса/Цикл лимонной кислоты (видео 7) | Клеточное дыхание | Биология #КлеточноеДыханиеKhanAcademy Следующее видео: https://www.youtube.com/watch?v=iK9R4gVNZCM&list=PLxGo9dxQkqWD0t6YfVNih472nUbLnSTeJ&index=8 Предыдущее видео: https://www.youtub...		

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 15

Mavzu: Nafas olish zanjiri. Sitoxromoksidaza faolligini aniqlash.

2-amaliy ish. Sitoxromoksidaza faolligini mushak to`qimasida aniqlash.		
Reaktivlar		*Jihozlar*
Nadi reaktivi, distillangan suv.		Chinni hovoncha, doka yoki qog`ozli filtrlar,voronka,pipetkalar, qum, probirkalar,suv hammomi.
№	Ish tartibi	Ball
1	*A.Sitoxromoksidaza preparatini tayyorlash.* 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.Bu ekstrakt ikki qismga bo'linadi.	

<table>
<tr><td>3</td><td><u>B. Sitoxromoksidazani sitoxromlar va havo kislorodi ishtirokida “Nadi” reaktivini oksidlashi</u>.
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.</td><td>  </td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Probirka tubida qolgan mushak to`qimasi shisha tayoqcha bilan filtr qog`ozga olinib, yuqoridagi reaktsiya takrorlanadi.</td><td>  </td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Olingan sitoxromoksidaza preparatining bir qismini filtr qog`ozda qoldirib, 1-2 tomchi “Nadi” reaktividan tomiziladi.</td><td>  </td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>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.</td><td>  </td><td></td></tr>
<tr><td>7</td><td>Ko`k rangni paydo bo`lmasligi qaynatish natijasida ferment faolligi yo`qolganligini bildiradi.<br>Olingan natijalar jadval ko`rinishida rasmiylashtiriladi.
<table>
<tr><th rowspan="2">Namuna №</th><th rowspan="2">Material</th><th rowspan="2">Ferment</th><th rowspan="2">Substrat</th><th colspan="2">Tajriba sharoiti</th><th rowspan="2">Namun rangi</th></tr>
<tr><th>Harorat ta’siri</th><th>Ingibi-torlar</th></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>

</td><td>  </td><td></td></tr>
</table>

LABORATORIYA MASHG`ULOTI № 16

Mavzu: Oksidlanishli fosforlanish mexanizmi. Limon kislota sikli degidrogenaza fermentlari faolligini aniqlash.

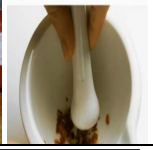
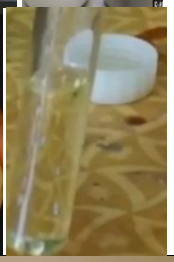
25-amaliy ish. Limon kislota sikli degidrogenaza fermentlari faolligini aniqlash

Organizmda bir qator substratlar to`g`ridan-to`g`ri degidrogenazalar ta’sirida degidrirlanadilar. 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) reaktsiya 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^+), suksinatdegidrogenazaniki esa – flavinadenindinukleotid (FAD) qatnashadi. Suksinatdegidrogenaza tarkibida temir bor.

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.

Reaktivlar	*Jihozlar*
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`kining 0,002% li eritmasi, vazelin moyi yoki kerosin.	Probirkalar, termometrli suv hammomi, tomizgichlar, shpatel, shisha tayoqchalar, oyna qalami.

№	Ish tartibi		Ball
1	Uchta 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.	 	

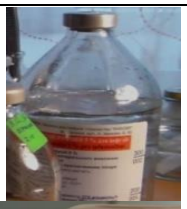
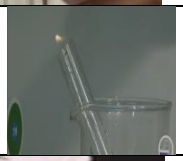
Frment manbai	Fer-ment	Substrat	Ferment katalizlagan substrat	Vodorod kseptori	Qaytarilgan metilen ko`ki	
					Faol ferment	Faolsiz-lantirilgan ferment

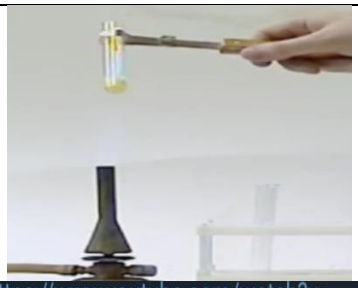
https://www.youtube.com/watch?v=EtBJgAlfMYQ
YouTube
Pyruvate dehydrogenase complex (Biochemistry Animations) - Mechanism , Regulation and inhibitors

LABORATORIYA MASHG'ULOTI № 17

Mavzu: Energiyani anaerob hosil bo`lishi. Glyukozaning spirtli achishini aniqlash.

	33- amaliy ish. Spirtli achishni aniqlash. Glyukozani anaerob sharoitda achitqi mikroorganizmi fermentlari ishtirokida spirt va uglerod oksidiga aylanishiga spirtli bijg`ish deb ataladi. Bijg`ish jarayonini kechishi uchun kislorod talab qilinmaydi, reaktsiya mexanizmi yo`nalishi bo`yicha glyukozo-6-fosfatdan boshlanib, pirouzum kislotasini hosil bo`lishi bilan tugaguncha mushak to`qimalaridagi glikolizning borishiga o`xshash. Bular o`rtasidagi farq hosil bo`lgan pirouzum kislotasining keyingi o`zgarishlariga bog`liq. Glikolizda piruvat laktatdegidrogenaza ishtirokida qaytarilgan nikotinamidadenindinukleotid ($NAD \cdot H_2$) bilan o`zaro reaktsiyaga kirishib, sut kislotasi (laktat) va oksidlangan nikotinamidadenindinukleotid (NAD^+)ni hosil qilsa, spirtli bijg`ishda piruvat avval sirka aldegidigacha dekarboksillanib, so`ngra $NAD \cdot H_2$ yordamida etil spirtiga qaytariladi. Glyukozadan tashqari boshqa geksozalar, Shuningdek disaxaridlar – maltoza va saxaroza achitqi fermentlari ta'sirida monosaxaridlarga gidrolizlanib, bijg`ish reaktsiyalariga beriladilar.	
	Reaktivlar	*Jihozlar*
	Yangi yoki quritilgan achitqi,glyukozaning 5% li eritmasi,vinnokamen kislotasi (vino durdasidan hosil qilingan kislotaning 1% li eritmasi,yodning kaliy yoddagi eritmasi .	Dorixona tarozisi,hovoncha, 50 ml o`lchamli silindr, 50 ml li stakanlar,ikkita achitqi asbobi,termostat,qog`oz filtrli voronkalar,probirkali shtativ,tomizgichlar.

№	Ish tartibi		Ball
1	1gr yangi yoki quruq achitqini 5%li glukozaning 20 ml eritmasidan solib eritiladi.	  	
2	so’ng suyuqlikni Eyxgork apparatiga solinadi.		
3	Termostatga 37^0C ga 30-50 daqiqaga qo’yiladi.		
4	Yuqori qismida gaz hosil bo’lishi boshlanishi bilan spirtga hamda karbonat angidridda sifat reaksiyasini o’tkazish mumkin bo’ladi.		
5	Karbanot angidridni aniqlash uchun 10%li natriy ishqoridan solinadi va qo’l bilan teshikni yopgan holda chayqatiladi.		
6	Karbonat angidrid ishqorga yutiladi va vacuum hosil bo’lib, barmoqlar teshikka tortiladi.	 	
7	Etil spirtini aniqlash uchun 2-3 ml suyuqlik filtrlanib olinadi.		

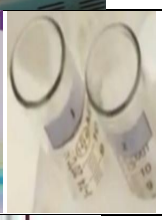
8	10%li yod eritmasidan sariq rang hosil bo'lguncha qo'yiladi va qizdiriladi. Biroz vaqtdan so'ng yodoform hidi seziladi. Xulosada apparatdagi tajriba va nazorat namunalarida gaz (CO_2) ni hosil bo`lishi taqqoslanadi va kuzatilgan o`zgarishga tushuncha beriladi. https://www.youtube.com/watch?v=mChlJ8TOsMs YouTube Спиртовое брожение глюкозы получение этилового спирта методом ферментации глюкозы https://www.youtube.com/watch?v=PHcN5BKlLD0 YouTube 9. Fermentation of glucose to ethanol experiment (HSC chemistry) Covers the HSC chemistry syllabus dot point:	 https://www.youtube.com/watch?v=v93j92EQlbc YouTube Alcohol Fermentation Process by Yeast (ENGLISH- Hindi is Also Available) By Solution Pharmacy How to Download Notes in PDF from Solution Pharmacy Facebook Group Using Laptop https://youtu.be/cE5MAt0J6hs Using Mobile https://youtu.be/ntzXKi2pA5U	

LABORATORIYA MASHG'ULOTI № 18

Mavzu: Glyukoneogenez. Uglevodlarning anaerob parchalanishida hosil bo'lgan sut kislotani aniqlash. Umumlashtiruvchi sinov darsi.

Mavzu: Uglevodlarning anaerob parchalanishida hosil bo'lgan sut kislotani aniqlash. Umumlashtiruvchi sinov darsi.		
Reaktivlar	*Jihozlar*	
uchxlorsirka kislotaning (UXCK) 10 % li eritmasi, mis (II)-sulfatning 10% eritmasi, kalsiy gidroksid kukuni, kontsentrlangan sulfat kislota, veratrol yoki gvayakolning spirtdagi 0,2 % eritmasi, vazelin moyi.	probirkalar, shtativ, suv hammomi, termostat, voronka, filtr qog'oz, muzli kristallizator	
№	Ish tartibi	Ball
1	Ikkita probirkaga pH = 8,0 bo'lgan fosfat buferidan 3 ml dan va 1 % li kraxmal eritmasidan 1 ml dan quyiladi. 	

2	Probirkalarning biri nazorat eritma vazifasini o’tab, unga 10% li uchxlorsirka kislota eritmasidan 1 ml qo’shiladi.		
3	Har ikkala probirkaga 1 g yangi maydalangan mushak solib, yaxshilab aralashtirilach, 10 tomchidan vazelin moyi tomiziladi		
4	37ºC li suv hammomiga qo’yiladi.		
5	1 soat o’tgach, ikkinchi (tajriba) probirkaga ham 10% li uchxlorsirka kislota eritmasidan 1 ml qo’shib, har ikkala probirkalardagi aralashma filtrlanadi.		
6	Filtratlarga uglevodlarni cho’ktirish uchun 1 ml va 0,5 g kalsiy gidroksid qo’shiladi.		
7	10 – 15 daqiqa vaqt o’tgandan keyin aralashma alohida-alohida filtrlanadi.		
8	ikkita toza probirkaga uglevodlar cho’kmasini ajratiladi.		
9	Filtratlarga ohistalik bilan 1,5-2 ml konsentrlangan sulfat kislota quyiladi.		

10	Bu vaqtda probirkalar sovuq muzli suvda turishi kerak.		
11	Reaksiyani tezlashtirish uchun probirkalarni suvdan chiqarib olib, qaynab turgan suv hammomiga 4-5 daqiqa qo'yiladi va darhol sovutiladi.		
12	So'ngra veratrol yoki gvayakolning 0,2% li spirtli eritmasidan 3 tomchi qo'shib, 20 daqiqa qoldiriladi.	 	
13	Glikogenoliz reaksiyasi ketgan probirkadagi aralashma qizil rangga kiradi.		
14	nazorat aralashma esa pushti rangga kirishi kuzatiladi. 		

Foydalanilgan adabiyotlar ro`yhati

1. Obidov O.O., Jo`raeva A. A., Malikova G.Yu. Biologik kimyo – T. 2012
2. Obidov O.O., Jo`raeva A. A. "Biologik kimyo" laboratoriya amaliyoti – T. 2010
3. Lehninger, David L. Nelson, Michael M. Cox. Principles of Biochemistry.New York. 2013. 1336 p.
4. Sobirova R.A. va boshq. Biologik kimyo. - T.: «Yangi asr avlodi», 2006.
5. Vavilova T.R., Ergasheva M.J., Xoshimova M.A. Biologik kimyo: savol va javoblar. Toshkent, 2012
6. Raxmatov N.R. Biologik kimyo – T., "Ta`lim" 2009
7. Северин С.Е. Биологическая химия с упражнениями и задачами.Москва. »ГЕОТАР-Медиа» 2011
8. Комов В.П., Шведова В.Н. Биохимия. Москва «Дрофа» 2008

Internet saytlari

1.http://www. ziyonet.uz 2.http://www.biochem.professorjournal.ru