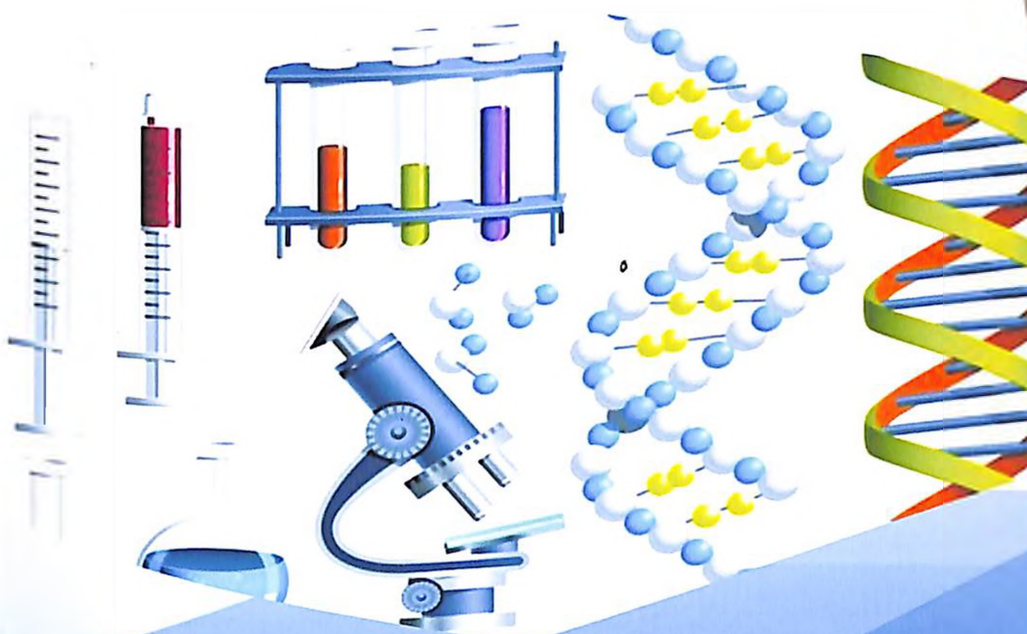




Q.T.Sovetov, A.K.Baykulov, M.U.Djalilov

BIOLOGIK KIMYO

O'QUV QO'LLANMA



Samarqand-2023

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIIY TA'LIM FAN VA INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI
SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI
SAMARQAND DAVLAT TIBBIYOT UNIVERSITETI**

Q.T. Sovetov, A. K. Baykulov, M.U. Djalilov



BIOLOGIK KIMYO
fanidan laboratoriya mashg'ulotlari
(stomatologiya (60910100-stomatologiya)
fakulteti talabalari uchun)
O'QUV QO'LLANMA



**“Bilig-ilmiy faoliyat” nashriyoti
Samarqand - 2023**

UDK: 577-21.23

BBK: 28.072.3

Biologik kimyo fanidan laboratoriya mashg'ulotlari (stomatologiya (60910100- stomatologiya) fakulteti talabalari uchun). O'quv qo'llanma – Samarqand: “Bilig-ilmiy –faoliyat” nashriyoti, – 2023. – 143 b.

Tuzuvchilar:

Q.T.Sovetov – Samarqand davlat tibbiyot universiteti biologik kimyo kafedrasida dotsenti, biologiya fanlari nomzodi.

A.K.Baykulov – Samarqand davlat tibbiyot universiteti Farmatsevtik va toksikologik kimyo kafedrasida mudiri, dotsent, biologiya fanlari bo'yicha PhD.

M.U.Djalilov – Samarqand davlat tibbiyot universiteti Biologik kimyo kafedrasida dotsenti, kimyo fanlari nomzodi.

Taqrizchilar:

A.G. Karabayev – Samarqand davlat tibbiyot universiteti Fiziologiyakafedrasida mudiri, tibbiyot fanlari doktori, dotsent.

M.S.Kuziyev – Samarqand davlat universiteti Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyo kafedrasida mudiri, biologiya fanlari bo'yicha PhD, dotsent.

Mazkur o'quv qo'llanma tibbiyot oliy o'quv yurtlarining stomatologiya (5510400- stomatologiya) fakulteti talabalari uchun tayyorlangan. O'quv qo'llanma DTS va na'munaviy dastur talablari darajasida Biologik kimyo faniga oid barcha laboratoriya ishlarini to'liq qamrab olgan. Ushbu o'quv qo'llanma laboratoriya ishlarni bajarishga mo'ljallangan. Bu ishlar oqsillar, aminokislotalar, uglevodlar, fermentlar, lipidlar, nuklein kislotalar, vitaminlar, gormonlarni sifatii va miqdoriy aniqlash, ularning fizik-kimyoviy xossalarini o'rganishga, shuningdek moddalar almashinuvining turli jihatlarini hamda mineral tuzlar almashinuvini, so'lak va tish qattiq to'qimasini o'rganishga qaratilgan.

ISBN: 978-9910-9974-5-7

© Q.T. Sovetov, A. K. Baykulov, M.U. Djalilov

© “Bilig-ilmiy faoliyat” nashriyoti

Kirish

Biologik kimyo hayotning molekulyar asoslari haqidagi fan. Unda organizmning biokimyoviy tarkibini, moddalarning o'zgarishini va ularning hayotiy faoliyati jarayonida amalga oshiriladigan almashinuvini organadi. Hozirgi vaqtda biokimyo o'z oldiga qo'yidagi asosiy vazifani qo'ygan - tirik hujayrani tashkil etuvchi molekulalar bir-biri bilan o'zaro ta'sirlashuvi va bu ta'sirlashuv hujayra hayotiy holatni saqlab qolishdagi o'rnini o'rganishdan iborat.

Biokimyo fani stomatologlar uchun asosiy fanlardan bo'lib, fiziologiya, patfiziologiya, biofizika va boshqa fanlar bilan uzviy bog'liq. Biokimyo fanini o'rganishning maqsadi - talabalarning (stomatolog) boshqa fanlarni o'rganishda qo'llash va kasbiy faoliyatda, molekulyar jarayonlar haqida ma'lumot, organizmning hayotiy jarayonlari mexanizmlari, shu jumladan inson organizmi, ham normani, ham patologik holatlarini tavsiflash; dorilarning biotransformatsiyasi mexanizmlarini, ularning ta'sirini tushunib olish metabolik jarayonlarga ta'sirini anglashdan iborat.

Kadrlar tayyorlash milliy dasturining maqsadi-ta'lim sohasini tubdan isloh qilish, uni o'tmishdan qolgan mafkuraviy qarashlar va sarqitlardan to'la halos etish, rivojlangan demokratik davlatlar darajasida, yuksak ma'naviy va axloqiy talablarga javob beruvchi yuqori malakali kadrlar tayyorlash Milliy tizimini yaratishdir. Dunyoga yangi ko'z bilan qaraydigan, uddaburon, ishning ko'zini biluvchi, buyuk kelajagimiz poydevorini quruvchi va yuksaltiruvchi mutaxassis kadrlarni tayyorlash, respublikamiz pedagoglari oldida turgan eng muhim va mas'uliyatli vazifadir.

Ushbu modernizatsiya qilingan fan dasturi Vazirlikning 2008-yil 30-maydagi Fan dasturlarini modernizatsiya qilishni tashkil etish to'g'risidagi 160-sonli buyrug'ida belgilangan vazifalarni amalga oshirish maqsadida, - Fanlarning o'quv dasturlarini modernizatsiya qilish bo'yicha yo'riqnoma va - Fanlar bo'yicha o'quv dasturlarini yaratish tartibi|| asosida ishlab chiqilgan

Laboratoriya mashg'ulotlari jarayonida rioya qilinishi lozim bo'lgan tartib- qoidalar

Kimyoviy moddalar zaharliligi, oson alanganuvchanligi, o'tkir hidliligi va portlovchi xususiyatga egaligi, mexanik ta'sirlarga chidamsizligi bilan ajralib turadi. Shuning uchun kimyo laboratoriyasida amaliy mashg'ulot darsini o'tkazishdan oldin har bir talaba bilan texnika va yong'in xavfsizliklari bo'yicha instruktaj o'tkaziladi.

1. Kimyo laboratoriyasida tajribani bajarishda ikki va undan ortiq kishilar ishlashi kerak.

2. Amaliy ishni amalga oshirishdan avval kimyoviy idishlarni, tajriba bajarish texnikasini, reagentlarning xossalari va elektr, gaz asboblari ishlatishni bilish kerak.

3. Laboratoriyada xalatsiz va sochiqsiz ishlash mumkin emas.

4. Laboratoriyada ishlaydigan har bir kishi yong'in o'chiruvchi asboblarning turar joyini, ulardan foydalanishni bilishi kerak.

5. Laboratoriyada ishlaganda ozodalikka, batartiblikka, xavfsizlik texnikasi qoidalariga rioya qilish kerak.

6. Laboratoriyada ishlaganda chekish, kimyoviy idishdan suv ichish va ovqatlanish mumkin emas.

7. Tajribani bajarishdan avval uni qanday bajarishni bilish (yozma bayonini o'qib chiqish), unda foydalaniladigan reaktivlar xossalari yaxshi bilish kerak.

8. Tajribani boshlashdan avval reaktivlar solingan idishlardagi yozuvlarga e'tibor berish kerak. Yozuvi yo'q (nomi keltirilmagan) reaktivlar bilan ishlamaslik kerak.

9. Oson alanganadigan o'tkir hidli suyuqliklar, zaharli moddalar, konsentrlangan kislotalar, ishqorlar bilan tajribalarni hamda reaksiya natijasida gaz moddalar hosil bo'ladigan tajribalarni mo'rili shkafda o'tkazish kerak.

10. Tez alanganuvchi - spirt, efir, benzol, toluol va boshqa suyuqliklarni ochiqalagada qizdirish, alanga yaqinida saqlash ruxsat etilmaydi. Ularni suv va qum hammomlarida yoki maxsus

plitalardagina qizdirish mumkin.

11. Idishdagi suyuqlik tasodifan alanganib ketgan taqdirda, avvalo qizdirish manbaini o'chirish, so'ngra alanga ustiga sochiq yoki qum sepish kerak. Alangani suv bilan o'chirish mumkin emas, chunki organik erituvchilar suvdan engil va suv yuzasiga qalqib chiqadi, natijada alanga soxasi yanada kengayadi. Faqat suv bilan aralashadigan moddalar (spirt, atseton) suv bilan o'chiriladi. Agar ishlayotgan kishining kiyimi yonsa, darhol asbest adyol yoki qalin mato bilan o'rash lozim.

12. Moddalar solingan idishlarning bo'g'zidan emas, balki yonidan ushlab foydalanish kerak.

13. Probirkadagi moddani qizdirayotganda, probirkani shtativga qiya qilib o'rnatish va yuqoridan pastga qarab asta-sekin qizdirish kerak. Bunda probirkaning og'zi ishlayotgan kishidan va atrofdagilardan boshqa tomonga qarashi kerak. Natriy metalli bilan ishlaganda avval natriy metalli o'tkir, quruqpichoq bilan filtr qog'oz ustida kesiladi, so'ngra metall quruq probirkaga (yoki idishga) solinib, tajriba o'tkaziladi. Aks holda natriy tez alanganib ketadi.

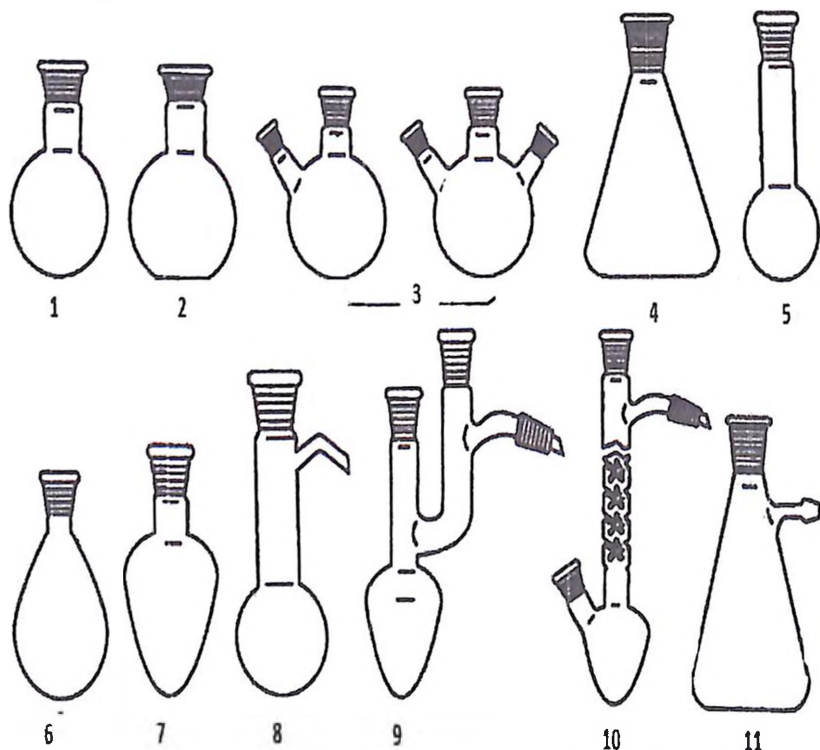
14. Konsentrlangan sulfat kislotani suyultirishda suvni kislotaga emas, balki kislotani suvga tomchilatib, aralastirib turgan holda qo'shish kerak, aks holda kislota sachrab, portlashi mumkin.

15. Laboratoriyada gaz gorelkasi va elektr asboblarini nazoratsiz qoldirish mumkin emas.

16. Ishni tugatgach, ish joyini tartibga keltirish, idishlarni yuvib joyiga qo'yish; elektr, gaz asboblarini o'chirish, ish stolini artib, tozalab qo'yish zarur.

Kimyoviy idishlar va organik kimyo laboratoriyasida ishlatiladigan kimyoviyva boshqa asboblari

Asosiy laboratoriya kimyoviy idishlariga kolbalar, stakanlar, probirkalar, kosachalar, voronkalar, sovitgichlar va boshqa turli xil idishlar kiradi. Kimyoviy idishlar har xil markadagi shishadan tayyorlanadi. Bu idishlar reagentlarga va issiqqa chidamlik bo'lgan shishalardan ishlanadi. **Kolbalar** hajmiga, shakliga ko'ra har xil bo'ladi (rasm.1):

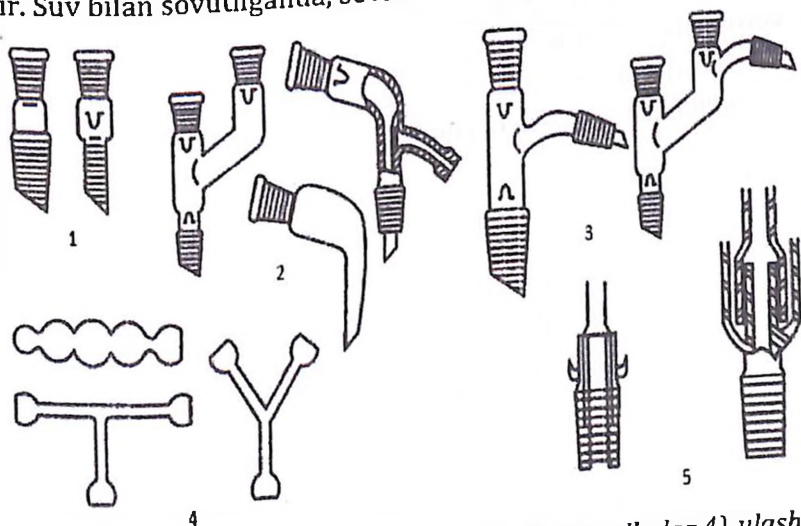


Rasm 1. 1) yumaloq tubli, 2) yassi tubli, 3) 2 yoki 3 bo'g'izli, 4) konussimon kolba (Erlenmeyer kolbasi), 5) Keldal kolbasi, 6) noksimon kolba, 7) o'tkir tubli kolba, 8) Vyurs kolbasi (haydash kolbasi), 9) o'tkir tubli (haydash uchun) Klyayzen kolbasi, 10) Favorskiy kolbasi, 11) Bunzen kolbasi.

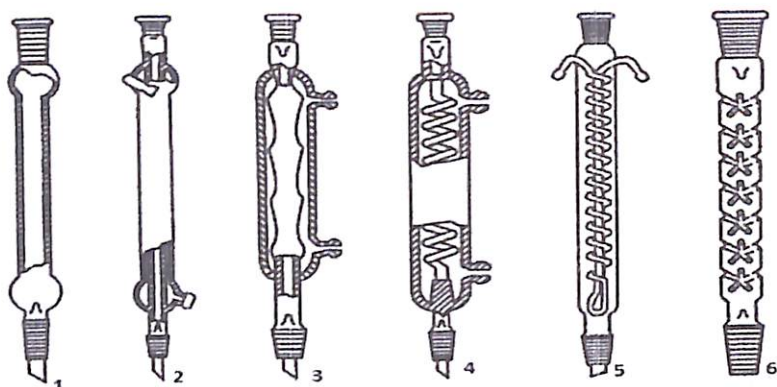
Yumaloq tubli kolbalar yuqori haroratda, atmosfera bosimida va vakuumda haydash uchun mo'ljallangan. Ikki va undan ortiq bo'g'izli kolbalar sintez olib borish uchun ishlatiladi va bunda bir vaqtda meshalka, sovitgich, termometrlardan foydalanish mumkin.

Yassi tubli kolbalar esa atmosfera bosimida suyuqliklarni asrash uchun ishlatiladi. Ba'zan reaksiyalarni olib borishda ikki, uch va hatto to'rt bo'g'izli kolbalar ham ishlatiladi. Ikki va uch bo'g'izli kolbalar bo'lmagan holda murakkab moslama tuzishga to'g'ri kelsa, unda oddiy yumaloq tubli kolbalar bilan sovitkichlarga turli **nasadkalar, zatvorlar, alonjlar** o'rnatib ishlatiladi (rasm 2).

Ko'pincha biror reaksiyani olib borish davomida ularni tozalashda engil uchuvchan organik erituvchilarni qizdirishga to'g'ri keladi. Bunday hollarda erituvchi uchib ketmasligi uchun **sovitgichlardan** foydalaniladi. Sovitgichlar suyuqlik bug'larini kondensatslash uchun ishlatiladi, ular bir necha xil bo'ladi: havo sovitgichlari, (rasm 3). Havo sovitgichlari yuqori haroratda qaynaydigan suyuqliklarni haydash uchun ishlatiladi. Sovituvchi - havodir. Suv bilan sovutilganda, sovituvchi suvbo'ladi.



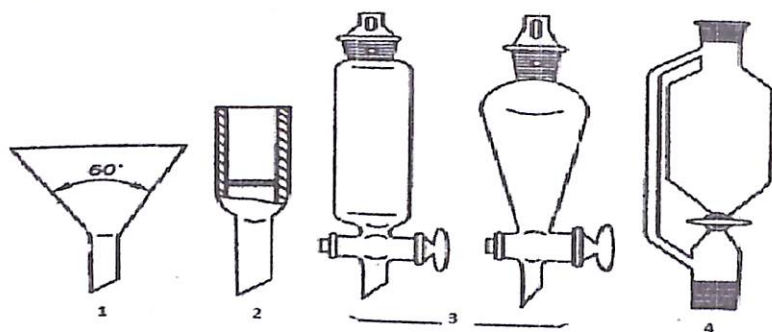
Rasm 2. 1) ulash muftalari, 2) alonjlar, 3) nasadkalar, 4) ulash trubkalari, 5) zatvorlar



Rasm 3. Sovitgichlar: 1) xavoli, 2) Libix sovitgichi, 3) sharsimon, 4) spiralsimon, 5) Dimrot sovitgichi va 6) deflegmator.

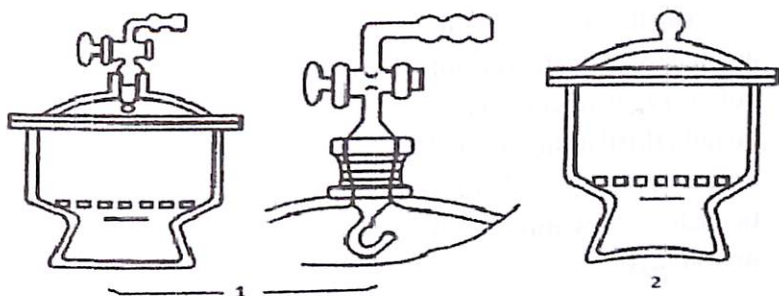
Kimyo laboratoriyasida *deflegmator*lar ham ishlatiladi. Ular suyuqlik aralashmalarini ajratib olish imkonini beradi (rasm 3, 6).

Suyuqliklarni filtrlash, ajratib olish uchun xar xil *voronkalar* ishlatiladi (rasm 4). Laboratoriya voronkalaridan suyuqliklarni bo'g'zi tor idishlarga quyish, filtrlash uchun foydalaniladi. Ajratish voronkalari aralashmaydigan suyuqliklarni ajratib olish, ekstraksiyada ishlatiladi. Tomizgich voronkalardan sintez davomida suyuqliklarni tomizish uchun foydalaniladi.



Rasm 4. Voronkalar: 1) oddiy, 2) Shotta voronkasi, 3) ajratish, 4) tomizgich

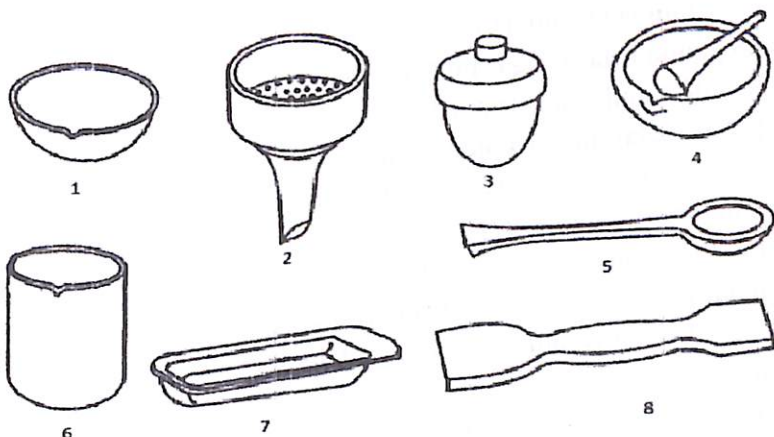
Eksikatorlar gigroskopik moddalarni saqlash va quritish uchun ishlatiladi.



Rasm 5. Eksikatorlar: 1) vakuumli, 2) oddiy.

Issiqlik bilan bog'liq bo'lgan ba'zi laboratoriya ishlarida **chinni idishlar**: stakanlar, kosachalar, tigellar ishlatiladi (rasm 6).

Cho'kmalarni vakuumda filtrlash, yuvish uchun farfor nutch-filtr-Byuxner voronkasidan foydalaniladi. Farfor xavonchalar qattiq moddalarni maydalash, aralashtirish uchun ishlatiladi.



Rasm 6. Chinni idishlar: 1) kosacha, 2) Byuxner voronkasi, 3) tigel, 4) xavoncha, 5) qoshiq, 6) stakan, 7) qayiqcha, 8) shpatel.

1-MAVZU. OQSILLARNI QURILISHI, XUSUSIYATI VA VAZIFALARI

Oqsillarni tuzlar ta'sirida cho'ktirish

Oqsil eritmalarning tuzlar ta'sirida cho'kmaga tushishiga oqsillarni tuzlash deyiladi. Bunda cho'ktirilgan oqsillarning tabiiy holati o'zgaraydi, ya'ni oqsil molekullari gidrat pardalaridan xoli bo'ladi. Hosil qilingan cho'kmalar tegishli erituvchi ta'sirida qaytadan eritma holatiga kelishi mumkin. Oqsillarning mikromolekullari tuzlash jarayonida chuqur o'zgarishlarga (denaturasiyaga) uchramaydi.

Qaytar cho'kma hosil qilish reaksiyalari ko'pincha oqsillarning suvdagi eritmalariga ishqoriy metallarning tuzlari ta'sir ettirish natijasida amalga oshiriladi. Bunday tuzlarga quyidagilar: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4Cl , Na_2SO_4 , NaCl , KCl misol bo'ladi. Bu tuzlar ionlarining oqsilning kolloid zarrachalariga ta'sir etish mexanizmi quyidagicha: ya'ni tuzlarning oqsillar mitsellasining zaryadiga qarama-qarshi zaryadli ionlar oqsilning kolloid bo'lakchasi yuzasiga adsorbsiyalanadi (shimiladi) va mitsellaning zaryadini neytrallaydi, natijada oqsil kolloid bo'lakchalarining zaryadi kamayadi - elektroneytral holatga o'tadi, bir-birini itarishkuchi kamayadi.

Bundan tashqari, ishqoriy metallarning tuzlari eritmadagi suvni ko'pmiqdorda o'ziga bog'lab oladi, natijada kolloid zarrachalar degidratlanib (suvsizlanish) holati yuz beradi va oqsilning kolloid bo'lakchalari bir-biri bilan birikib oqsil cho'kmaga tushadi.

Bu metodni tuzlar ta'sirida cho'ktirish deb qaraladi. Oqsillarni bunday cho'ktirish qaytar jarayon deb qaraladi, quyuq oqsillarning bu cho'kmalariga suv quyilganda u erib, qaytadan kolloid eritma holatiga o'tadi. Bu jarayonga peptizatsiya deyiladi.

Ammoniy sulfatning konsentrlangan eritmaları deyarli hamma oqsillarni cho'ktirish xususiyatiga ega. Masalan: oqsil eritmaları ammoniy sulfat tuzi bilan chala to'yinganda avvalo globulinlar cho'kmaga tushadi. To'liq to'yinganda esa albuminlar cho'kmaga tushadi.

Natriy, kaliy xlorid tuzlari va magniy sulfat tuzlari bilan oqsil eritmasini to'liq to'yintirgandan keyin globulinlarni cho'kmaga tushirada. Kuchli kislotali munitda bu tuzlar albuminlarni ham cho'kmaga tushiradi.

Oqsil dializi

Oqsil eritmalari quyi molekulali moddalardan, tuzlashdan keyingi ortiqcha tuz miqdoridan holi qilishdagi eng qulay usullardan biri dializdir.

Yuqori molekulali birikmalarni quyi molekulali birikmalardan yarim o'tkazgich membranalar (kollodiy, sellofan, pergament qog'ozi va h.k.) yordamida ajratish dializ usuli deyiladi. Katta diametrga ega bo'lgan oqsil molekulari bunday membranalardan o'ta olmaydi, quyi molekulali birikmalar - tuzlar esa ulardan oson o'tadi.

Oqsil eritmalari tarkibidagi quyi molekulali birikmalardan gel-filtratsiya usuli yordamida tez va butunlay holi bo'lishi mumkin. Buning uchun maxsus xromotografiya kolonkalar suvda yoki buffer eritmasida bo'ktirilgan gel bilan to'ldiriladi. Ushbu usul bilan moddalarni ajratish ular tarkibidagi molekularning katta - kichikligiga bog'liq. Katta molekular gel tirqishlariga kira olmaydi va kolonkadan birinchi bo'lib chiqadi. Kichik molekular esa gel tirqishlari va kolonkalarda ushlanib qolganligi uchun juda sekin harakatlanadi. Gel-filtratsiya usuli ko'pincha moddalarni elakdan o'tkazish orqali ajratish deyiladi. Shunday ajratishning uchta bosqichi bor.

Masalan, dekstran polisaharidlar- sefadekslar shular jumlasidan. Tirqishlarining soni va katta-kichikligiga qarab sefadekslarning bir necha xili tafovo't qilinadi. Bu esa ulardan kattalikdagi molekularni ajratishda foydalanishga imkon yaratadi. Sefadekslar tarkibida juda ko'p gidroksil "ur" guruhi bo'lganligi uchun ular oson bo'kib, gelga aylanadi. Gelning cho'kish xossasi qancha yuqori bo'lsa, sefadeksning tartib soni shuncha katta bo'ladi. Odatda oqsil eritmalarini tuzlardan tozalashda G=25 markali sefadeksdan foydalaniladi.

2-MAVZU. OQSILLAR FUNKSIYALARINING FAZOVIIY QURILISHIGABOG'LIQLIGI

Oqsillar ikkita katta guruhga bo'linadi:

1. Proteinlar yoki oddiy oqsillar.
2. Proteidlar yoki murakkab oqsillar.

Proteidlar oqsil tabiatli modda va oqsil tabiatiga ega bo'lmagan moddalardantashqil topgan bo'ladi..

Proteinlar asosan har xil erituvchilarda erishiga qarab bo'linadi. Proteinlarga **albuminlar va globulinlar** kiradi.

Albuminlar-bu suvda yaxshi eriydigan oqsillar. Albuminlar tuxum oqsilida (tuxum albumini), sutda (sut albumini), qon zardobida (qon albumini) bo'ladi.

Globulinlar- bu suvda erimaydigan oqsillar. Globulinlarni tuzli eritmalaridan suv bilan suyultirib yoki tuzlarning konsentratsiyasini oshirib cho'ktirish mumkin.

Globulinlar- sutda (sut globulini) va qonda (qon zardobi globulini) bo'ladi, zardob globulinlarining molekulyaar massasi β_1 , α_1 , α_2 , va γ -harflari bilan belgilanadi va shunga muvofiq 10000, 200000, 300000 va 30000 ga teng.

Qon zardobi g-globulinlari yuqumli kasalliklarga qarshi immunitetchaqiradi.

Proteinlar guruhiga protenoidlar yoki skleroproteinlar ham kiradi. Ularga: teri, soch (jun), tirnoq, shoxlar tarkibiga kiruvchi keratin, ipakda bo'ladigan fibroinkiradi va x.k.

Proteinlarga kelib chiqishi o'simliklardan bo'lgan oqsillar-krolaminlar, protaminlar va gistonlar kiradi.

Proteidlar

Ular asosan molekulasiga kiruvchi, oqsil bo'lmagan moddalarning tabiatiga ko'ra quyidagi guruhlarga bo'linadi

Xromoproteidlar- oqsilli qismidan va rang beruvchi oqsil tabiatiga ega bo'lmagan moddalardan iborat. Masalan-gemoglobin.

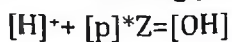
Organizmدا kislorodni tashishda muhim ahamiyatga ega. Gemoglobin globulinlar guruhiga kiruvchi globin oqsilidan va bo'yalgan modda gemdan tashqil topgan. Gem murakkab tuzilishga ega, azot va temirni saqlaydi.

Nukleoproteidlar- hujayraning yadrolari tarkibiga kiradi. Ular oqsilli moddalarga va nuklein kislotalarga parchalanadi. **Fosfoproteidlar**- gidrolizlanganda oqsilga va fosfat kislotaga parchalanadi. Vakili sut va pishloq oqsili - kazein.

Glikoproteidlar- oqsil moddalari va karbonsuvini saqlovchi moddalardan tashqil topgan. Vakili so'lakda bo'ladigan- mutsin.

Lipoproteidlar-oqsil moddalardan va lipidlardan (yog'lar, fosfatidlar vaboshqalar) tashqil topgan.

Oqsillarning izoelektrik va izoion nuqtalari. Amfoter xossalarga ega bo'lgan oqsillar izoelektrik nuqtada barcha ion zaryadlari nolga teng bo'lib, tushadi (erimaydigan ko'rinishga o'tadi), elektroforetik harakatchanligi yo'qoladi. Izoelektrik nuqta pI bilan belgilanadi. Tabiiy oqsillarning ko'pchiligi $pI=5.55\sim 7.0$ atrofida bo'ladi. Agar oqsil eritmasida aminokislotalar ionogen guruhlaridan boshqa ionlar bo'lmasa, bunday oqsil eritmasiga izoion eritma deyiladi. Oqsil eritmasini boshqa ionlardan ajrashish uchun uni aniono-kation almashishini kolonkadan o'tkazish mumkin. Ushbu oqsilning izoion nuqtasi eritmaning pH ni aniqlash bilan topiladi.



Bunda $[p]$ - oqsil molyar konsentratsiyasi Z - molekulaning o'rtacha zaryadi.

Bu tenglamadan ko'rinish turibdiki, oqsilning izoion nuqtasi uning konsentratsiyasiga bog'liq. $pI=7$ bo'lganida oqsilning izoelektrik va izoion nuqtalari bir xil bo'ladi.

3-MAVZU. OQSILLARNING FIZIK VA KIMYOVIYXUXUSIYATLARI

Oqsillarning denaturasiyalanish reaksiyalari

Og'ir metall ionlari ta'sirida oqsillarni cho'ktirish

Og'ir metall tuzlarining ionalari (mis, qo'rg'oshin, kumush, simob va x.k.) ta'sirida oqsillar kolloid eritmasi qaytmas koagulyatsiya holatiga ya'ni gel holatiga o'tadi. Bu ionlar oqsil molekulalari mustahkam kompleks birikmalar hosil qiladi. Bundan tashqar ular ta'sirida oqsillarning kolloid bo'lakchalarining zaryadi kamayadi hatto oqsillarning ikkinchi va uchunchi strukturalari ham chuqur o'zgarishga uchraydi

Og'ir metall tuzlarining ta'sirida cho'kmaga tushgan oqsil cho'kmalari, boshlang'ich eritmaları ya'ni suv va tuzlarning kuchsiz eritmalarida ham eriydi.

Oqsillarning og'ir metallar tuzlarning ionlarini biriktirib cho'kmaga tushgan xossasidan meditsina va veterenariyada mis, simob, qo'rg'oshin tuzlari bilan zaharlanganda zaharsizlantirish uchun keng qo'llaniladi.

Kerakli asboblari. 1.Shtativ probirkalari bilan. 2.Shisha tayoqchalar.

Reaktivlar: 1.Natriy xlorning to'yingan eritmasi 2.Kumush nitratining 3% li eritmasi 3. Mis sulfat tuzining 0,5% li eritmasi 4. Qo'rg'oshin atsetat tuzining 0,5% li eritmasi. 5. Simob xloridning (sulema) $HgCl_2$ 0,5 li eritmasi. 6. Tuxumning oq qismidan tayyorlangan, 20 barobar hajmda suyultirilgan va bir necha qavat dokadan filtrlangan oqsil eritmasi.

Ishning bajarilishi: To'rtta probirkaga 1-2 ml dan oqsil eritmasidan quyiladi. Birinchi probirkaga qo'rg'oshin atsetat tuzining 5% li eritmasidan, ikkinchi probirkaga mis sulfat tuzining 0,5% li eritmasidan, uchinch probirkaga kumush nitrat tuzining 3% li eritmasidan va to'rtinchi probirkaga esa simob xloridning 0,5% li eritmasidan (xushyor bo'ling, zahar!) solinadi. To'rttala probirkada ham oqsillar cho'kmaga tushadi. Qo'rg'oshin atsetat va mis sulfat

tuzining eritmalari solingan probirkalarga yana shu eritmadan biroz qo'shilganda cho'kmaga tushgan oqsillarning erib ketganligini kuzatiladi.

Simob solingan probirkaga natriy xloridning to'yingan eritmasidan 7-8 tomchi tomizilganda, cho'kmaga tushgan oqsilning erib ketishi kuzatiladi.

Mineral kislotalar ta'sirida oqsillarni cho'ktirish

Konsentrlangan mineral kislotalar (ortofosfat kislotasidan tashqari) oqsil eritmalarida qayta erimaydigan cho'kmalar hosil qiladi. Bu reaksiya qaytmas reaksiya hisoblanadi. Oqsillarning kolloid bo'lakchalari dehidratasiyalanadi va ularni zariyadlari neytrallanadi, natijada kompleks birikmalar — kislotalar bilan tuzlar hosil bo'ladi. Mineral kislotalar (nitrat kislotasidan tashqari) cho'kmaga tushgan oqsillarning eritib yuborish xususiyatiga ega.

Kerakli asboblari: 1. Shtativ probirkalari bilan.

Reaktivlar: Konsentrlangan xlorid, sulfat va nitrat kislotalari. 2. Oqsil eritmasi.

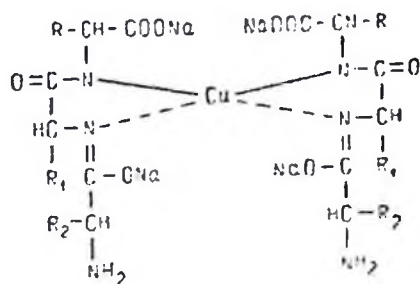
Ishning bajarilishi: uchta probirka olib har biriga ehtiyotlik bilan 1 ml dan birinchisiga xlorid kislotasi, ikkinchisiga sulfat va uchinchisiga nitrat kislotasidan quyiladi. Uchala probirkadagi kislotalar ustiga xam sekinlik bilan 1 ml dan oqsil eritmasidan quyiladi. Probirkadagi ikkala suyuqlikning chegarasida, halqalar holatida oqsilning oq cho'kmalari hosil bo'ladi.

Har bir probirmanini sekinlik bilan chayqatiladi. Bu vaqtda xlorid va sulfat kislotalari solingan birinchi va ikkinchi probirkalardagi oqsil cho'kmalari erib ketadi. Nitrat kislotasi solingan uchinchi probirka chayqatilganda ham cho'kma erib ketmaydi.

4-MAVZU. OQSILMIQDORINI BIURET USULI BILAN ANIQLASH

Biuret reaksiyasi

Usulning asoslanishi. Oqsil eritmasi ishqoriy sharoitda mis (II) sulfat eritmasi qo'shilganda ko'kimtir – binafsha rangga kiradi. Ushbu rang mis ionlarining peptid bog'lar bilan hosil qilgan kompleks birikmasiga bog'liq. Bu reaksiyani ikki va undan ortiq peptid bog' tutgan peptidlar , oqsillar beradi. Ushbu reaksiya barcha oqsillarga tegishli. Biuret kompleksi tuzilishi:



Tekishiriluvchi material : oqsil eritmasi.

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

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar va spirt lampasi.

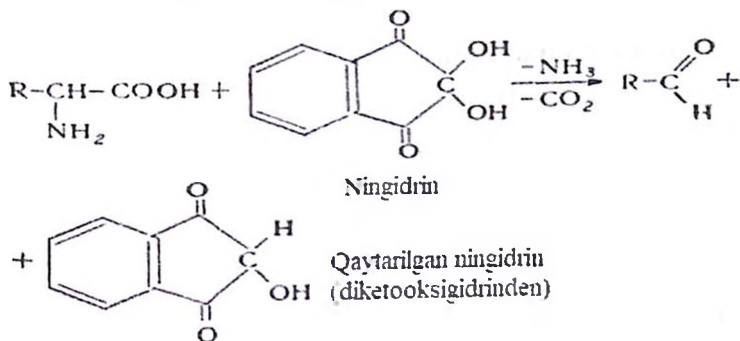
Ushbu reaksiya oqsil eritmasida siklik aminokislotalar, fenilalanin, tirozin, gistidin va triptofan borligini isbotlaydi.

Reaksiyaning asoslanishi. oqsil eritmasiga konsentrlangan nitrat kislota qo'shilganda benzol halqaning nitrallanishi natijasida sariq rang hosil bo'ladi. Eritmaga ishqor qo'shilganda esa, u sarg'ish-pushti rangga o'tadi (sariq rangli nitrobirikma hosil bo'ladi).

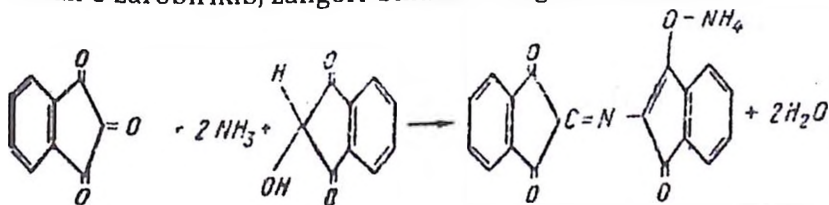
Bajariladigan ish tartibi : 5 tomchi oqsil eritmasiga 2 tomchi natriy gidroksidning 10 % li eritmasi va mis sulfatning 1 % eritmasidan bir tomchi solib aralashtiriladi. Eritma ko'k binafsha tusga kiradi.

Ningidrin reaksiyasi

Oqsillar, α -aminokislotalar va polipeptidlar ningidrin bilan o'zaro reaksiyaga kirishib, zangori yoki binafsha rangli birikmalar hosil qiladi. Aminokislotalarning ningidrin bilan o'zaro ta'sir reaksiyasi tubandagi tenglamaga muvofiq sodir bo'ladi:



Qaytarilgan ningidrin va ammiak yana bir molekula ningidrin bilan o'zarobirikib, zangori-binafsha rangli birikma hosil qiladi:



Ningidrin Diketooksigidrinden Ko'k binafsha rangli birikma

Kerakli anjomlar: 1. Probirkalar; 2. Pipetkalar. 3. Shtativ. 4.

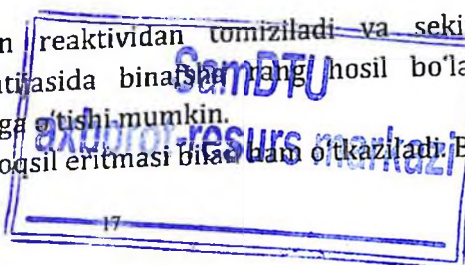
Elektr plitkayoki gaz gorelka.

Reaktivlar: 1. Oqsil eritmasi. 2. 0,1% li glisin eritmasi. 3. 0,2% li ningidrin eritmasi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 1-2 ml glisin eritmasi olinib, uning ustiga 5-

6 tomchi ningidrin reaktividan tomiziladi va sekin-asta qizdiriladi. Qizdirish natijasida binafsha rang hosil bo'ladi. U keyinchalik zangori rangga o'tishi mumkin.

Shunday reaksiyani oqsil eritmasi bilan ham o'tkaziladi. Buning



uchun probirkaga 1-2 ml oqsil eritmasidan olib, uning ustiga 5-6 tomchi ningidrin reaktividan qo'shib qizdiriladi, natijada binafsha rang hosil bo'ladi. Zangori-binafsha rangning hosil bo'lishi a - aminokislotalarning borligini ko'rsatadi. Olingan natija daftarga yozib boriladi.

Qon zardobi umumiy oqsillar miqdorini aniqlash (refraktometrik usul)

Usulning asoslanishi. Refraktometrik usuli turli muhitlarda yorug'lik nuri o'tkazishi turlicha bo'lishiga asoslangan. Nur tushishi burchagi (sinusi), nur sinishiburchagi(sinusi) ga nisbati $n = \sin i_1 / \sin i_2$ bilan aniqlanadi. Bu ko'rsatgich miqdori namunadagi oqsil konsentratsiyasiga bog'liq. Qon zardobi boshqa tarkibiy qismlari refratsiya darajasiga deyarli ta'sir ko'rsatmaydi.

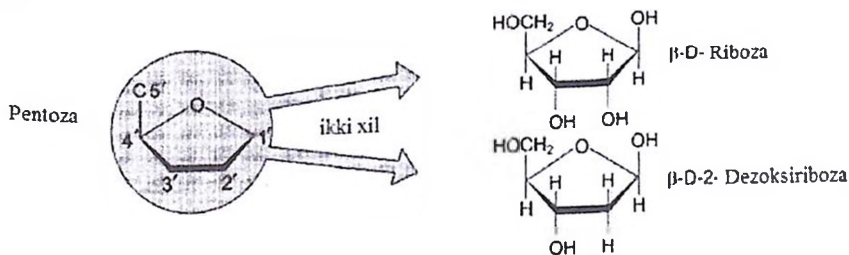
Ishning borishi. Refraktometr pipetka bilan qon tomiziladi. Ko'rsatgichquyidagi jadvalda aniqlanadi.

Refraktometr ko'rsatkichi	Qon zardobida oqsil miqdori, (g/l)
1,34124	30.6
1.34162	32.8
1.34199	35.0
1.34237	37.2
1.34275	39.4
1.34313	41.6
1.34350	43.8
1.34338	46.0
1.34426	48.1
1.34462	50.3
1.34500	52.3
1.34537	54.7
1.34575	56.8
1.34612	59.0
1.34650	61.2
1.34687	63.4

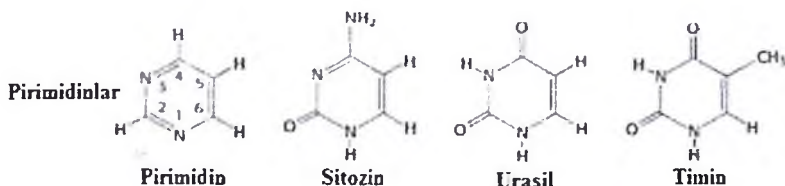
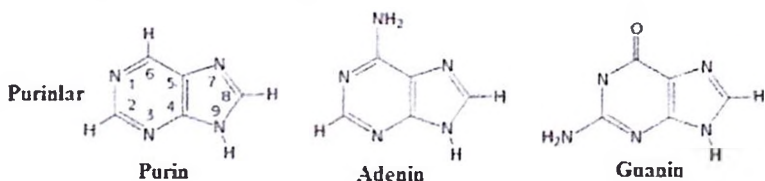
5-MAVZU. NUKLEIN KISLOTALARNING QURILISHI

NK larning turlicha kattalik va ulchamda bo'lishi ularning tur spesifiklikda ham ahamiyatli. Masalan, SV40 hayvon virusining tarkibida $5,0 \times 10^3$ nukleotidlar va 5 gen mavjud; T4 bakteriofagida - $2,0 \times 10^5$ nukleotidlar va 200 genlar; *E.coli* - $4,6 \times 10^6$ nukleotidlar va 4600 genlar; odam gaploid hujayrasida - $2,8 \times 10^9$ nukleotidlar va 30000 - 40000 genlar mavjud. Shuni aytish joizki, inson spermatozoidlarida DNK miqdori 60%, somatik hujayralarida - 1-10% (mushaklarda - 0,2%), yadrodan tashqari DNK esa 1,3% ni tashkil qiladi. Hujayralarda RNK miqdori yuqori bo'lib DNK nisbatan 5-10 marotaba ko'pdir, oqsil sintezi jadal kechuvchi hujayralarda RNK/DNK nisbati 4-10 tashkil qilsa, oqsil sintezi o'rtacha kechuvchi hujayralarda - 0,3-2,5 ni tashkil qiladi. Eukariot hujayralarda RNK 11% yadroda, 15% - mitoxondriyalarda, 50% - ribosomalarda, 24% - sitoplazmada joylashgan.

Nuklein kislotalarni to'liq gidrolizlashda (xlorid kislotasida qizdirishda) gidrolizatda purin va pirimidin asoslar, uglevodlar (riboza va dezoksiriboza) va fosfat kislota qoldig'i borligi aniqlangan. DNK molekulasida uglevodlardan dezoksiriboza, RNK esa - riboza bo'ladi, shuning uchun ularning nomlanishi ham: dezoksiribonuklein (DNK) va ribonuklein (RNK) kislotalardir. DNK va RNK molekulasida uglevodlar (riboza va dezoksiriboza) β -D-ribofuranosa shaklida bo'ladi:



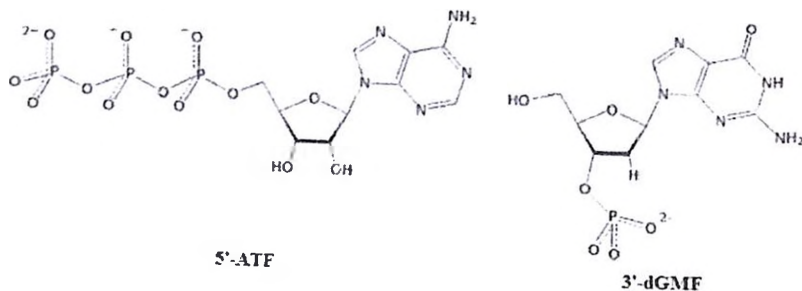
Purin va pirimidin asoslarini 2 aromatik geterosiklik halqalar – pirimidin va purin tashkil etadi:



Purin azot asoslari 9-chi N bilan, pirimidin azot asoslari 1-chi N pentozalarning 1-chi C bilan β -N-glikozid bog' bilan birikmasi nukleozid deyiladi:



Nukleozidlar pentozalariga fosfat kislota(lar) qoldig'i birikmalariganukleotidlar deyiladi:



Nuklein kislotalarning birlamchi, ikkilamchi va uchlamchi qurilishlari. Birlamchi qurilishi. Nuklein kislotalarning birlamchi qurilishi deb DNK va

RNK polinukleotid zanjirida mononukleotidlarni ma'lum tartibda joylashishiga aytiladi. Bunday zanjirni 3',5'-fosfodiefir bog'lari mustahkamlaydi. Nuklein kislotalarning molekulyar massasi 2×10^4 dan $10^{10} - 10^{11}$ darajalarida yuqori bo'lishisababli ularning birlamchi qurilishini aniqlash murakkabdir. Shunga qaramay barcha nuklein kislotalarda 3',5'-fosfodiefir bog'lari 4 xil nukleotidlari o'zaro bog'laydi.

Nukleotidlararo bog'lanishlarni hosil qilishda uglevodlarning 3'- va 5'- holatlaridagi gidroksil guruhlar qatnashadi.

Hozirgi kungacha bir necha yuz yoki mingdan ortiq nukleotidlar qoldiqlaridan tashkil topgan *E.coli*, viruslar RNK, barcha tRNK va ba'zi 5S rRNK, 16S rRNK birlamchi qurilishi aniqlangan. Quida RNK molekulasida tarkibidagi nukleotidlar ketma-ketligining sxematik ko'rinishi keltirilgan. Barcha hujayra RNK bitta polinukleotid zanjiridan tashkil topgan:

5'-G-U-G-S-A-A-...-U-S-G-S-S-A-3'

RNK molekulasining polinukleotid zanjirining birinchi uchida doimo erkin monofosfat efiri bo'lib, u 5'-uchi deb belgilanadi; uning qarama-qarshi ikkinchi uchida bunday fosfat qoldig'i bo'lmaydi. Bu uchida erkin 2'- yoki 3'-gidroksil guruhi tutuvchi nukleotid bo'ladi.

tRNK birlamchi qurilishidagi 2 o'ziga xos xususiyatiga to'xtalishimiz kerak: birinchisi - uning 5'-uchida asosan guanilat kislotaning (ba'zan sitidilak kislotasi) erkin fosfor kislotasi qoldig'ini tutadi; ikkinchisi - uning qarama-qarshi tomonida barcha tRNK doimo -SSA tripleti bo'ladi, uning adenilat kislotasida esa erkin 3'-OH-guruhi bo'ladi.

DNK molekulasining birlamchi qurilishi to'g'risidagi ma'lumotni (asosan uning fragmentlari to'g'risidagi ma'lumotni) bilvosita usullar bilan aniqlash mumkin. Jumladan, DNK molekulasidagi nukleotidlar zanjirining zichlik darajasi asosida (izotoplarda nukleotidlar soni va

tuzilishi to'g'risida), yoki DNK reassisiatsiyalanish kinetikasi asosida (takrorlanuvchi nukleotidlar qismlarini aniqlash). DNK birlamchi qurilishi to'g'risida minor asoslarni tarqalish qonuniyati asosida ham gapirish mumkin.

Ikkilamchi qurilishi. DNK tarkibini o'rganishda to'rt xil nukleotid asoslarining joylashuvi ma'lum qonuniyatga buysunishini Ervin Chargaff va unung safdoshlari tomonidan 1940 yillarda o'rganilgan, va quyidagi qoidalar yaratilgan: 1. Har xil turlar DNKsida azot asajslari miqdori farqlanadi.

2. Bir turga kiruvchi organism turli tuqimalaridan ajratib olingan DNK tuzilishida azotli asoslar tarkibi bir xildir.

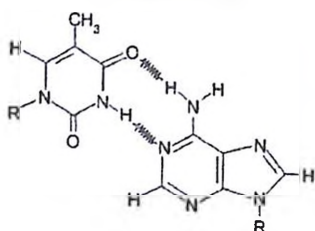
3. Ma'lum bir tur DNK tarkibi yoshga, ovqat rasioniga va tashqi muhitga bog'liq emas.

4. Har xil turlar DNKsida nukleotid tarkibining xususiyati shuki, adeninli nukleotidlar soni timidinli nukleotidlar soniga teng ($A=T$), guaninli nukleotidlar soni sitidinli nukleotidlar soniga teng ($G=S$), demak $A+G=T+S$, ya'ni purinli nukleotidlar soni pirimidinli nukleotidlar soniga teng.

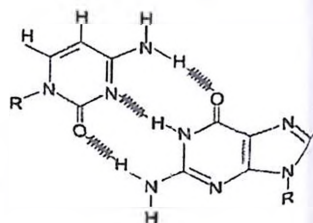
Dj. Uotson va F. Krik tomonidan o'tkazilgan tajribalarga hamda rentgenostruktur analiz ko'rsatkichlariga asoslanib 1953 yili ular DNK molekulasi u polinukleotid zanjirlardan iborat ekanligi aniqlangan (1-rasm). Bu zanjirlar o'zaro o'q atrofida o'ng tomonga aylanuvchi qo'sh spiralni hosil qiladi. Bu zanjirlar azot asoslari orasida hosil bo'luvchi vodorod bog'lar hisobiga mustahkam bo'ladi. DNK bispiral molekulasidagi zanjirlar fazoda ma'lum bir tartibda joylashadi, ya'ni azot asoslari qo'sh spiral ichida, uglevod va fosfat qoldiqlari esa tashqarida qoladi.

DNK qo'sh zanjirida azotli asoslar orasidagi vodorod bog'lar quyidagicha

Timin : Adenin
(ikkita vodorod bog')



Sitozin : Guanin
(uchta vodorod bog')



tasvirlanishi mumkin:

DNK molekulasidagi 2 zanjirlar qarama-qarshi yo'nalgan bo'lib, 1-chi zanjirdagi nukleotidlar orasidagi bog'lanishlar $5' \rightarrow 3'$ yo'nalishida bo'lsa, 2-chi zanjirda $3' \rightarrow 5'$ yo'nalishida bo'ladi. DNK molekulasidagi polinukleotid zanjirlarning bunday yo'nalishlari replikatsiya va transkripsiya jarayonlarida muhim biologik ahamiyatga ega.

Zanjirlardagi barcha azotli asoslar qo'shspirallning ichki qavatida, pentozofir qismlari esa - tashqi qavatda bo'ladi. Bu polinukleotid zanjirlar bir- biriga nisbatan vodorod bog'lari hisobiga purin va pirimidin nukleotidlarining komplementarligi qonuniyati asosida ushlanib turadi: A va T orasida (2 bog'), G va S orasida (3 bog'). DNK molekulasining bitta zanjiridagi nukleotidlar ketma- ketligi ikkinchi zanjirdagiga to'liq komplementar. Qo'shspirall DNK molekulasining azot asoslari orasida gidrofob bog'lanishlar hosil bo'lib, ular ham qo'shspirallni mustahkamlaydi. Bunday qurilmada azot asoslarini suv bilan kontaktini yo'qotadi, ammo bunday to'plamlar absolyut vertikal bo'lishi mumkin emas. Azot asoslari juftliklari bir-biriga nisbatan qisman siljigan. Shuning uchun hosil bo'lgan qurilmada 2 buramalar: katta - kengligi 2.2 nm va kichik - kengligi

1.2 nm hosil qiladi. Kichik va katta buramalardagi azot asoslar xromatin hosil qilishda qatnashuvchi spetsifik oqsillar bilan bog'lanadi. DNK spirallining har bir buramasi 10 nukleotid qoldig'idan tashkil topgan bo'lib, uning o'lchami 3,4 nm ga teng keladi, ya'ni har bir nukleotidning ulcami 0,34 nm dir.

Neukleoproteidlar tarkibiy qismlariga sifat reaksiyalar

Nukleoproteinlar qisman gidrolizlanganda oqsil va nuklein kislotalargacha parchalanadi. To'liq gidroliz natijasida nuklein kislotalar azotli asoslar (Purinlar A, G va Pirimidinlar S, U, T); pentozalar (riboza, dezoksiriboza); H_3PO_4 kabi tarkibiy qismlarga parchalanadi.

Bajariladigan ish tartibi. A. Gidroliz.

Keng probirkaga 0.5 g achitqi, ustiga 4 ml 10% H_2SO_4 solinadi va qaytar sovutgich (xolodilnik) bilan birlashtiriladi (25-30 sm uzunlikdagi shisha nay). Moslama asbest to'rtli isitgichda 1 soat davomida qaynatiladi.

Gidrolizdan so'ng aralashma sovutilib, filtrlanadi. Hidroliz mahsulotlar ranglireaksuyalar yordamida aniqlanadi.

B. Polipeptidlarni aniqlash uchun biuret reaksiyasi.

Asoslanish: polipeptid strukturalar ishqoriy muhitda Cu ionlari bilan kukbinafsha kompleks hosil qiladi.

Ishning borishi: 5-tomchi gidrolizatga 10-tomchi 10% NaOH va 1-tomchi 1% $CuSO_4$ solinadi.

C. Purin asoslariga kumush sinamasi.

Asoslanish: purin asoslari ishqoriy muhitda $AgNO_3$ och-qung'ir rangli purin asoslarining tuzlarini hosil qiladi.

Ishning borishi: 10-tomchi gidrolizat 1-tomchi konsentrlangan ammiak bilan neytrallanadi. So'ng unga 5-tomchi 1% $AgNO_3$ solinadi. 3-5 minutdan keyin purin asoslarining kumushli tuzlari chukmaga tushadi.

D. Pentozaga Molish reaksiyasi.

Asoslanish: pentoza konsentrlangan H_2SO_4 bilan ta'sirlashganda degidratlanib furfuroлга aylanadi, u esa timol bilan kondensasiyalanib qizil rangga kiradi.

Ishning borishi: 10-tomchi gidrolizatga 3-tomchi 1% timolning spirtidagi eritmasi solinib aralashtiriladi, so'ng probirka devori buylab 20-30 tomchi konsentrlangan H_2SO_4 qo'shiladi. Probirka tubida qizil chukma hosil bo'ladi.

E. Fosfat kislota molibden sinamasi.

Asoslanish: ammoniy molibdat nitrat kislota ishtirokida fosfat kislota bilan och sarg'ish rangli ammoniy fosfomolibdat tuzini hosil qiladi.

Ishning borishi: 5-tomchi gidrolizatga 20-tomchi molibden reaktivini solib, qizdiriladi. Aralashma sovitilganda och sarg'ish rangli ammoniy fosfomolibdat kompleks chukmaga tushadi.

6-MAVZU. NUKLEIN KISLOTALAR BIOSINTEZI

DNK va RNKlarning biosintezini molekular mexanizmlarini o'rganish, umumbiologik jixatdan irsiyatni saqlanish mexanizmlarini va irsiy belgilarni belgi sifatida yuzaga kelishini, irsiy kasalliklarni sabablarini ochishda vujudga kelgan muommalarini xal etish bilan bog'liqdir.

Nuklein kislotalarni o'rganish usullari.

1. To'qimalar gomogenatidan DNK ajratish uchun organoidlar va membranalar sentrifugalash yo'li bilan tozalanadi, oqsillar proteazalar (proteinaza K) ta'sirida parchalanadi, DNK etanol bilan cho'ktiriladi, supernatant olib tashlanib bufer eritmasida eritiladi.

2. DNK molekulasini 150000000 nukleotidlar juftini saqlaydi va uning uzunligi 4 sm. Shuning uchun ular turli xil ta'sirotlarga o'ta sezuvchan va to'qimalardan ajratish jarayonida fragmentlarga ajraladi. Hosil bo'lgan fragmentlar mingdan ortiq nukleotidlar juftligini tutadi va ishlash uchun noqulay. Shuning uchun ularni yana qo'shimcha fragmentlarga ajratiladi.

Fragmentasiyalash uchun bakteriyalardan ajratib olingan restriktaza — fermentlaridan foydalaniladi. Bakteriyalarda bu fermentlar begona DNK larni yo'qotishda ishlatiladi. Restriktazalar inson organizmida uchraydigan DNK ning 4-6 nukleotidlar ketma-ketligidan tashkil topgan spesifik polinukleotid zanjirlarini (restriksiya saytlari) taniydi va uzadi. Tabiatda juda ko'p turli xil restriktazalar uchraydi va ular o'zining spetsifik restriksiya saytlarini taniydi. Ularni ishlatib DNK molekulasini kerakli uzunlikdagi fragmentlarini olish mumkin (2-jadval).

7-MAVZU OQSIL BIOSINTEZI

Zanjirli polimeraza reaksiyasi. Bazan tadqiqotlarni o'tkazish uchun ko'p miqdorda yuqori molekularli tozalangan DNK kerak bo'ladi. Bu usul DNK molekulasining ma'lum bir qismlarini tanlab sintezlash imkoniyatini yaratadi va 3-4 soat ichida milliondan ortiq

fragmentning kopiyalarini olish mumkin. Bunda manba sifatida qon, to'qima bioptati, so'lak, siydik, homila suyuqliklari bo'lishi mumkin.

Ba'zi restriktazalar ta'sir nuqtalari

Ferment nomi	DNK dagi ta'sir nuqtasi
<i>BamHI</i>	(5')G ¹ GATCC(3')
<i>Clal</i>	(5')AT ¹ CGAT(3')
<i>EcoRI</i>	(5')G ¹ AATTC(3')
<i>EcoRV</i>	(5')GAT ¹ ATC(3')
<i>HaeIII</i>	(5')GG ¹ CC(3')
<i>HindIII</i>	(5')A ¹ AGCTT(3')
<i>NotI</i>	(5')GC ¹ GGCCGC(3')
<i>PstI</i>	(5')CTG ¹ CTG(3')
<i>Tth111I</i>	(5')GACN ¹ NNGTC(3')

*-gidrolizlanadigan fosfodiefir bog'l, N-istalgan nukleotid

8-MAVZU. FERMENTLARNING STRUKTURA FUNKSIONAL TUZILISHI. FERMENTLARNING TA'SIR ETISH MEXANIZMI. SO'LAKALFA AMILAZASI FAOLLIGINI VOLGELMUT BO'YICHA ANIQLASH

Hujayralarda kechuvchi barcha kimyoviy jarayonlar fermentlar ishtirokida kechadi. Shuning uchun metabolik yo'llarning kechish tezligiga ta'sir etish uchun faqatgina fermentlar miqdori va faolligiga ta'sir etib boshqarish mumkin. Odatda metabolik yo'llarning kalit fermentlari bo'ladi, ular shu metabolik yo'lning kechish tezligini boshqarib turadi va boshqaruv (regulyator) fermentlari deb nomlanadi. Ular odatda metabolik yo'llarning boshlang'ich yoki qaytmas, yoki tezlikni boshqaruvchi (sekin kechuvchi reaksiyalarni), yoki metabolik yo'llarning shoxlanishidagi fermentlardir.

So'lak alfa amilazasi faolligini Volgelmut bo'yicha aniqlash.

Tekshiriluvchi material: so'lak.

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

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, suv hammomi, termostat.

Bajariladigan ish tartibi: 10 ta probirkaga tartib bilan 1 ml dan distillangan suv solinadi. Birinchi probirkaga 1:10 suyultirilgan so'lakdan 1 ml solib aralashtiriladi. Uning bir xil ml si ikkinchisiga va undan 1 ml si uchinchisiga va shu tarzda davom ettirilib aralashtiriladi. Oxirgi probirkadagi 1 ml so'lak aralashmasi olib tashlanadi. Natijada probirkalarda so'lakning turli darajada suyultirilgan eritmasi tayyorlanadi.

Probirkalar	1:	2:	3:	4:5	6:	7:	8:	9:	10
Amilazaning suyultirilish darajasi	1:20	1:40	1:80	1:60	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120

Barcha probirkalarga 2 ml 1 % li kraxmal eritmasidan solib aralashtiriladi va 38- 400C termostat yoki suv hammomiga 30 daqiqaga joylashtiriladi. Vaqt o'tgach, probirkalardagi aralashma sovutiladi va ularning ustiga 1-2 tomchidan yod eritmasi tomizib aralashtiriladi. Eritmalar turli rangga bo'yaladi. Ko'k rang kraxmal parchalanganligini, sariq rang esa kraxmalning maltozagacha parchalanganligini ko'rsatadi. Amilaza faolligini aniqlash uchun kraxmalning to'liq parchalangan sariq rangli eritmasining suyultirilgan darajasi topiladi.

Misol: sariq rang 5-probirkada kuzatilgan bo'lsa, uning suyultirilgan darajasi 1:320 ga teng. Amilazaning shu suyultirilgan darajasi, 30 daqiqada 1 ml kraxmalni parchalash tezligini topish uchun quyidagi hisoblash usulidan foydalaniladi.

1:320-----2 ml

$$1-----X$$

$$X=2 \text{ ml}^2 \underline{=} 640 \text{ ml}$$

$$1/320$$

Demak, 1 ml suyultirilgan amilaza 30 daqiqada 640 ml 1% li kraxmal eritmasini parchalaydi. Amilaza faolligini xalqaro birlikka o'tkazish uchun

$$100 \text{ ml}-----1 \text{ g.}$$

$$640 \text{ ml}-----X \text{ g.}$$

$$X=640 \underline{=} 6,4 \text{ g} * 1000 = 640 \text{ mg}$$

$$100$$

Sog'lom odamlarda so'lak amilazasining faolligi 12-32 mg/s yoki 12-32 g (s/l).

9-MAVZU AMILAZA FAOLLIGIGA MUHITNING (pH) T VA HARORATA'SIRI

Tekshiriluvchi material: 10 marta suyultirilgan so'lak amilazasi

Reaktivlar: kraxmalning 1% dli eritmasi, yodning kaliy yodiddagi eritmasi, 0,07 mol/l li fosfat buferning pH i turlicha (5,4-8,0) bo'lgan eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, pipetkalar, shisha oynachalar.

Bajariladigan ish tartibi. Amilazaga ta'sir qiladigan optimal muxitni amilazaning kraxmalga ko'rsatgan ta'siridan bilish mumkin. Optimal muhitda amilaza kraxmalni to'liq parchalaydi. Optimal muhitdan siljigan vaqtda esa

kraxmalning parchalanishi susayadi. Kraxmalga yod eritmasini tomizganda u ko'k ranga kiradi. Kraxmal parchalanganda esa rang xosil bulmaydi.

1. Ishni boshlashdan oldin 1 ml so'lakka 9 ml distillangan suv ko'shib amilaza eritmasi tayyorlanadi. So'ng probirkaga 1 ml 1% kraxmal eritmasidan va 1:10 suyultirilgan amilazadan 0,5 ml olib aralashtiriladi, 36-40^oS da o'n daqiqa ushlanadi. Vaqti -vaqti bilan eritmada bir tomchi olib (shisha oynachaga) yod eritmasidan tomiziladi. Kraxmal parchalanganini sariq rang hosil bo'lganligidan bilish mumkin. 10 daqiqa ichida kraxmal to'liq parchalanadi.

2. Amilazaning optimal muhitini topish uchun qator probirkalarga turli muhitli fosfat buferi solinadi.

Probirkalar	1	2	3	4	5	6	7	8
0,07 mol/l fosfat buferi pH i	5,4	5,8	6,2	6,6	6,8	7,0	7,4	8,0
M1	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Kraxmalning 1% li eritmasi, ml	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
1:10 suyultirilgan so'lak 10 daqiqa ichida kraxmalni parchalaydi	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Probirkadagi suyuqliklar aralashtirilib, 10 daqiqaga 38-40^o S li hammomiga qo'yiladi. Bir ozdan so'ng har bir probirkaga yod eritmasi tomiziladi.

Probirkalardagi rangning o'zgargani kuzatiladi Olingan natijalar rasmiylashtiriladi.

Amilazaga ta'sir qiladigan optimal muhitni aniqlab, tegishli xulosa yoziladi.

Amilaza faolligiga haroratning ta'siri

Turli darajadagi haroratda amilazaning faolligi, kraxmalning parchalanishiyod reaksiyasi yordamida aniqlash mumkin.

Tekshiriluvchi material: so'lak amilazasi.

Reaktivlar: I₂, 1% li KI eritmasi, kraxmal 1 % li eritma,

distillangan suv.

Kerakli anjomlar: shtativ va pipetkalar, probirkalar, termostat (40°C); suvlihammom, buyum oynachalari.

Bajaralidigan ish tartibi. 1. 4 juft probirka tayyorlanadi. Uning to'rttasiga kraxmalning 1 % li eritmasidan 0,5 ml va to'rtasiga suyultirilgan so'lak amilazasidan 0,5 ml solinadi.

2. Birinchi juft probirkaning (biri kraxmalli, ikkinchisi amilazali) birini muz solingan hammomda; ikkinchisi xona haroratiga, uchinchisini 40°C li suv hammomiga yoki termostatga va to'rtinchisini qaynab turgan suv hammomiga 10 daqiqaga qo'yiladi.

3. Bir ozdan so'ng probirkalardagi suyuqliklar aralashtiriladi va yuqoridagi sharoitda yana 10 daqiqa ushlanadi.

Bir ozdan so'ng uchinchi juft probirkadagi suyuqlikdan uch tomchi shisha oynachaga olib yod bilan reaksiya o'tkaziladi. Agar suyuqlik ko'k rang bersa, probirkalar yana 10 daqiqa o'sha sharoitda ushlanadi. So'ng har qaysi probirkaga ikki tomchi yod eritmasi tomiziladi. Kraxmalning yod bilan hosil qilgan rangi kuzatiladi.

10-MAVZU. FERMENTLAR FAOLLIGINING BOSHQARILISHI, KLINIKENZIMOLOGIYA

Har bir ferment bitta yoki bir necha turdagi reaksiyalar guruhini tezlashtiradi. Fermentlar uchun xos bulgan qator xususiyatlar ularning oqsil tabiati bilan bog'liqdir, bu xususiyatlariga termolabillik, optimal pH qiymatida faolligini namoyen qilishi, fermentlarning aktivlanishi va ingibirlanishi. Fermentativ kataliz mexanizmi anorganik katalizatorlardan uzining kooperativligi va fermentativ ta'sir bosqichlarda ruy berishi bilan farqlanadi.

Fermentativ reaksiyalar tezligi 3 xil yo'llar bilan boshqarilishi mumkin:

- Fermentlar miqdori o'zgarishi;
- Substrat va koferment miqdori bilan;
- Fermet molekulasining katalitik faolligini o'zgarishi bilan.

Hujayrada ferment molekulalarining miqdorini boshqarilishi. Hujayralarda ferment molekulasining soni 2 xil qarama-qarshi jarayonlar nisbatiga bog'liq — ferment molekulasining sintezi va parchalanish tezligiga. Fermentning sintezi va foldingi murakkab ko'p bosqichli jarayondir. Shuning uchun oqsil sintezining boshqarilishi oqsil molekulasini shakllanishining barcha bosqichlarida bo'lishi mumkin. Oqsil molekulasini sintezining transkripsiya bosqichining boshqarilishi to'liq o'rganilgan hamda metabolitlar, gormonlar va boshqa biologik faol molekulalari orqali amalga oshiriladi. Fermentlar parchalanishining boshqarilishi to'liq o'rganilmagan. Bu jarayon faqatgina proteoliz emasdir, balki murakkab jarayonlar bo'lib gen orqali boshqarilishi mumkindir.

Fermentativ reaksiyalar tezligini substrat va kofermentlar bilan boshqarilishi. Bunda asosiy ko'rsatkich bo'lib metabolik yo'llardagi substratlarning bo'lishidir, ayniqsa birinchi substratning miqdori. Birlamchi substratning miqdori qancha ko'p bo'lsa, metabolik yo'l shuncha tezlashadi. Ikkinchi ko'satkich — bu kofermentlarning regeneratsiya darajasidir. Masalan, degidrogenlanish reaksiyalarida degidrogenazalarning kofermenti bo'lib NAD^+ , FAD, FMN oksidlangan shakli xizmat qiladi va ular bu reaksiyalarda qaytarilgan shakliga o'tib qoladi. Bu kofermentlar qaytadan yana degidrogenlanish reaksiyalarida qatnashishi uchun ular oksidlangan shaklga regeneratsiyalanishi kerak.

Fermentlarning katalitik faolligini boshqarilishi. Metabolik yo'llarning tezligini o'zgartirishda muhim rolni bir yoki bir-necha kalit fermentlarning katalitik faolligini boshqarish kerak. Metabolizmni boshqarishda bu yo'l o'ta samaradorli va tez kechuvchi usul hisoblanadi.

Fermentlar faolligini boshqarilishining quyidagi asosiy yo'llari mavjud:

- Allosterik boshqarilish;
- Oqsil-oqsil bog'lanishlar orqali boshqarilish;
- Ferment molekulasining fosforillanish va defosforillanish

yo'li orqali boshqarilish;

- Qisman proteoliz yo'li bilan boshqarilish.

Allosterik boshqarilish. Fermentlar faolligigi nafaqat substrat miqdori, balki boshqa moddalar (effektorlar) bilan boshqariluvchi fermentlar allosterik fermentlardeyiladi. Allosterik effektorlar — shu metabolik yo'lning metabolitlaridir. Hujayra metabolizmida allosterik fermentlar muhim rol o'ynaydi, chunki ular hujayraning ichki muhitini o'zgarishiga o'ta sezuvchandir. Allosterik boshqarilish quyidagi holatlarda ahamiyatlidir: anabolik jarayonlarda. Metabolik yo'llarning boshlang'ich fermentini oxirgi maxsulot bilan ingibirlanishi, oxirgi fermentning birlamchi mahsulot bilan faollanishi moddalar sintezini boshqarib va me'yorlashtirib turadi. Katabolik jarayonlarda energiya ATF sifatida ishlab chiqariladi. Hujayrada ATF to'planishi energiya bilan ta'minlovchi shu metabolik yo'lning ingibirlanishiga olib keladi. Bunda substratlar me'yorida ishlatiladi va ularni zaxiralanishi kuzatiladi; anabolik va katabolik yo'llarni koordinatsiyalashda (bog'lashda). ATF va ADF — allosterik effektorlardir va antagonist ta'sir etadi. paralel va bir-birlari bilan bog'langan metabolik yo'llarni boshqarishda (masalan, nuklein kislotalar sintezida qatnashuvchi purin va pirimidin nukleotidlar sintezi). Bunda birinchi metabolik yo'lning oxirgi mahsuloti ikkinchi metabolik yo'lning allosterik effektor bo'lib hisoblanadi. Allosterik effektorlar. Ferment faolligini pasaytiruvchi (ingibirlovchi) effektorlar manfiy effektorlar, yoki ingibitorlar deyiladi. Ferment faolligini oshiruvchi (faollashtiruvchi) effektorlar (musbat) effektorlar, yoki aktivatorlar deb nomlanadi. Allosterik effektorlar bo'lib ko'pincha turli xil metabolitlar xizmat qiladi. Ko'pincha metabolik yo'llarning oxirgi mahsulotlari allosterik fermentlarning ingibitorlari hisoblanadi, birlamchi substrat esa aktivator bo'ladi. Biologik tizimlarda bunda allosterik boshqarilish keng tarqalgan.

Bu ko'pincha oligomer oqsillar, bir necha protomerlardan tashkil topgan va domen qurilishiga ega, ularda allosterik markaz bo'lib, u katalitik markazdan uzoqda joylashgan. Fermentning

allosterik markazlariga effektorlar nokovalent bog'lanadi,allosterik markazlar, katalitik markazlarga o'xshash turli xil spetsifiklikka (absolyut yoki guruh) ega. Ba'zi fermentlarda bir-necha allosterik markazlar bo'ladi, ularning ba'zilari aktivatorlarga nisbatan spetsifik bo'lsa, ba'zilari ingibitorlarga spetsifikdir;

- allosterik markaz tutuvchi protomer regulyator protomer hisoblanadi,

katalitik markaz tutuvchi protomerda kimyoviy reaksiya kechadi;

- allosterik fermentlar kooperatsiyalanish xususiyatiga ega: allosterik effektorni allosterik markaz bilan bog'lanishi qolgan subbirliklarda faol markazning konformatsion o'zgarishlarga olib keladi va fermentni substratga nisbatan spetsifikligini (moyilligini) o'zgartiradi. Natijada ferment faolligi pasayishi yoki ortishi mumkin;

- allosterik fermentlarning boshqarilishi qaytardir: effektorni regulyator subbirlikdan ajralishi fermentning avvalgi katalitik faolligini tiklaydi;

- allosterik fermentlar shu metabolik yo'ning kalit reaksiyalarini boshqaradi. Metabolik jarayonlarning tezligi zanjirli reaksiyalarda ishlatiluvchi va hosil bo'luvchi moddalar konsentratsiyasiga bog'liq. Bunday boshqarilish samaralidir, chunki oxirgi mahsulotning to'planishi shu metabolik yo'ning boshlang'ich fermentini allosterik ingibirlaydi:

Bunday boshqarilish – teskari bog'lanish yoki retroingibirlanish deyiladi.

Markaziy metabolik yo'llarda birlamchi substrat shu metabolik yo'ldagi kalit fermentining aktivatori bo'lishi mumkin. Bunda oxirgi fermentni allosterik faollanishi kuzatiladi:

Misol sifatida glyukozaning parchalanishini (glikoliz) olishimiz mumkin. Glyukozaning oxirgi mahsulotlaridan biri bo'lib ATF hisoblanadi. Hujayrada ATF miqdorining ortishi glikolizning kalit fermentlari fosfofruktokinaza va piruvatkinazani retroingibirlanishiga olib keladi. Agar fruktozo-1,6-bisfosfat miqdori

oshsa piruvatkinaza allosterik faollashadi. Bunday boshqarilish hisobiga glyukozaning parchalanish metabolik yo'lining me'yoriy ishlashi ta'minlanadi.

Fermentlar faolligini oqsil-oqsil bog'lanishlar orqali boshqarilish.

Ba'zi fermentlar o'zining katalitik faolligini oqsil-oqsil bog'lanishlar orqali o'zgartiradi. Bunday boshqarilishning 2 xil mexanizmini ko'rib chiqamiz:

- regulyator oqsillarni birikishi natijasida fermentning faollanishi;

- ferment protomerlarining assosiatsiyasi yoki dissosiatsiyasi natijasida katalitik faollikning o'zgarishi.

Regulyator oqsillarni birikishi natijasida fermentning faollanishini sitoplazmatik membranada joylashgan adenilatsiklaza fermenti faollanishi misolida ko'rib chiqishimiz mumkin. Adenilatsiklazaning faol markazi plazmatik membrananing sitoplazma tomonida joylashgan. Faollashgan adenilatsiklaza gormonlarning ikkilamchi hujayra ichi messenjeri siklik 3',5'-AMF (sAMF) ATF hosil bo'lishini katalizlaydi.

Membranada adenilatsiklaza boshqa oqsillar bilan kompleksda ishlaydi:

- hujayra tashqarisiga qaratilgan va gormonlar bilan birika oladigan retseptorlar bilan bog'lanishi mumkin;

- retseptor va adenilatsiklaza fermenti oralig'ida joylashgan G-oqsil bilan bog'lanishi mumkin. G-oqsil — oligomer oqsil bo'lib, 3 subbirliklardan (α , β , γ) tashkil topgan. α -Subbirligida GTF biriktirish va parchalash markazi mavjud, shuning uchun bu oqsilni GTF-bog'lovchi yoki G-oqsil deyishadi;

- gormonni reseptor bilan bog'lanishi G-oqsilning konformatsiyasini o'zgartiradi, GDF moyilli kamayadi, GTF esa moyilligi oshadi. GTF birikishi bu oqsil subbirliklarini dissosiatsiyalanishiga olib keladi, $\beta\gamma$ dimer ajraladi, GTF bilan bog'langan α -subbirligi esa adenilatsiklazaga birikadi;

• a-GTF adenilatsiklazaga moyilligi yuqori bo'lib adenilatsiklazaning regulyator oqsili hisoblanadi va bu fermentning faollanishiga olib keladi, ATF parchalanib sAMF hosil bo'ladi.

Ferment protomerlarining assosiatsiyasi yoki dissosiatsiyasi natijasida katalitik faollikning o'zgarishi. Proteinkinazalar — bu bir necha fermentlar guruhi bo'lib, fermentning aminokislota qoldig'idagi OH-guruhiga ATF fosfat kislota qoldig'ini biriktiradi (oqsillarning fosforillanishiga olib keladi). Proteinkinaza A (sAMF-bog'liq proteinkinaza) 2 xil turdagi 4 subbirlıklardan tashkil topgan: 2 regulyator (R) va 2 katalitik (C) subbirliklari mavjud. Bunday tetramer nafaol. Regulyator subbirliklarning har birida sAMF bog'lovchi markazlari mavjud. 4 sAMF 2 regulyator subbirliklarga birikishi regulyator protomerlarning konformatsiyasini o'zgartiradi, tetramer kompleksi dissosiatsiyalanadi va 2 faol katalitik subbirliklar ajralib chiqadi (yuqoridagi rasmga qarang). Bunday boshqarilish mexanizmi qaytar. sAMF regulyator subbirliklardan ajralishi proteinkinazaning subbirliklarini assosiatsiyasi va nafaol tetramerni hosil bo'lishiga olib keladi.

Ferment molekulasining fosforillanish va defosforillanish yo'li orqali boshqarilish. Biologik tizimlarda fermentning aminokislota qoldiqlarini kovalent modifikatsiyasi orqali boshqarilish ko'p kuzatiladi. Fermentlarning fosforillanish/defosforillanish yo'li bilan modifikatsiyalanish tez kechadi va keng tarqalgan. Bunda fermentlarning OH-guruhlari modifikatsiyaga uchraydi. Fosforillanish proteinkinazalar, defosforillanish esa fosfoproteinfosfatazalar ishtirokida kechadi. Ferment molekulasiga fosfat qoldig'i qo'shilishi faol markazning konformatsiyasi va katalitik faolligini o'zgarishiga olib keladi. Buning natijasida ba'zi fermentlarning faollashishi, ba'zilarning esa ingibirlanishi kuzatiladi. Fosforillanish natijasida ferment faolligining o'zgarishi qaytardir.

Proteinkinaza va fosfoprotein-fosfatazalar faolligi gormonlar tomonidan boshqariladi. Bu tashqi ta'sirotlarga metabolik yo'llarning kalit fermentlarining tezkor javobini ta'minlaydi. Funktsiyalari ko'ra

antagonistik ta'sir etuvchi gormonlar fermentlarni fosforillanish/defosforillanishiga qarama-qarshi ta'sir etib hujayradagi metabolik jarayonlarni o'zgartiradi. Masalan, ovqatlanishlar oralig'ida glyukogon gormoni ta'sirida energetik materiallar (yog'lar, uglevodlar, oqsillar) sintezi susayadi, ularni parchalanishi jadallashadi, chunki bu jarayonlarni boshqaruvchi kalit fermentlarning fosforillanishi kuzatiladi. Insulin ta'sirida (ovqatlanishda) glikogenning sintezi jadallashadi, parchalanishi ingibirlanadi, chunki insulinini retseptor bilan bog'lanishi kalit fermentlarning defosforillanishini faollashtiradi.

Qisman proteoliz yo'li bilan boshqarilish. Hujayradan tashqarida fermentativ jarayonlari boshqaruvchi fermentlar (oshqozin-ichak yo'llari va qon plazmasi fermentlari) nafaol holatda sintezlanadi va bo'shliqlarga ajralgandan so'ng peptid bog'larini gidrolizlanishi hisobiga faollashishadi. Oqsil molekulasining qolgan qismi konformatsion o'zgarishga uchraydi va fermentning faol markazi shakllanadi.

Qisman proteoliz yo'li bilan fermentlar faolligini boshqarilish yo'li qaytmas hisoblanadi. Bunday fermentlarning umri va faoliyat qilish davri qisqa. Bu yo'l bilan asosan proteolitik fermentlar faolligi boshqariladi, qondagi qon ivish tizimiva fibrinolizda qatnashuvchi oqsillar, komplement tizimi oqsillari va ba'zi oqsil tabiatli gormonlar faoliyati boshqariladi.

Fermentlar faolligi boshqarilishining 3 darajasi bor:

1. Fermentlar faolligi hujayra ichi omillari bilan boshqariladi: substratlar, metabolitlar (aktivatorlar va ingibitorlar), pH, temperatura. Bu fermentlar faolligining avtomatik boshqarilishi hisoblanadi.

2. Gormonal boshqarilish. Oqsil tabiatli gormonlar, adrenalina va boshqalar adenilatsiklaza orqali hujayra ichi fermentlari faolligi boshqariladi. Steroid gormonlar va tiroksin genlar ekspressiyasiga olib keladi va kalit fermentlar miqdorini oshiradi.

3. Nerv boshqarilish - ularning ta'siri gormonlar orqali

kuzatiladi.

Fermentlar aktivatorlari va ingibitorlari. Ferment faolligini ingibitorlari – dori vositalar sifatida

Fermentlar faolligini turli xil vositalar (ingibitorlar) ta'sirida pasayishi yoki yo'qolishi «fermentlar faolligini ingibirlanishi» deyiladi. Ingibitorlarga ferment faolligini ingibirlovchi moddalar kiradi. Ferment oqsil molekulasining nospetsifik denaturatsiyalanishi hisobiga fermentativ reaksiyalarni susayishiga olib keluvchi denaturatsiyalovchi agentlar fermentlar ingibitori hisoblanmaydi. Ko'pchilik dori vositalarining va zaharlarning ta'sir mexanizmida fermentlar faolligini ingibirlanishi yotadi. Shuning uchun ingibirlanish jarayonlarini o'rganish molekulyar farmakologiya ,toksikologiyada muhimdir. Ingibitorlar fermentlar bilan turlicha bog'lanishi mumkin. Shunga asoslanib ingibirlanish 2 turga bo'linadi: qaytar: $E+J \leftrightarrow EJ$ va qaytmas ingibirlanish. $E+J \rightarrow EJ$

Qaytar ingibirlanish quidagilarga bo'linadi: raqobatli, raqobatsiz, raqobat qilmaydigan, substrat va allosterik.

Raqobatli ingibirlanishda ingibitor ta'sirida ferment-substrat kompleksi hosil bo'lmasligi natijasida fermentativ reaksiya tezligining qaytar susayishi kuzatiladi. Bunday turdagi ingibirlanish ingibitor substratning analogi bo'lganida fermentning faol markazi bilan bog'lanish uchun raqobat bo'lganida kuzatiladi. Agar ferment substrat bilan biriksa ferment-substrat (ES) kompleksi, ingibitor bilan biriksa - ferment-ingibitor (EI) kompleksi hosil bo'ladi. Ferment-ingibitor kompleksi hosil bo'lsa reaksiya mahsuloti hosil bo'lmaydi.



Bunga misol qilib suksinatdehidrogenazani malon kislota bilan ingibirlanishini keltirish mumkin. Malon kislota tuzilishi jihatidan

qaxrabo kislotasining analogi (2 karboksil guruhini tutadi) hisoblanadi va fermentning faol markaziga birikishi mumkin. Ammo 2 vodorodni malon kislotadan ajralishi kuzatilmaydi va natijada reaksiya tezligi susayadi.

Konkurent ingibitor substratning K_m ko'rsatkichini oshiradi, natijada fermentni substratga bo'lgan moyilligi pasayadi. Ya'ni ingibitor ta'sirida $1/2V_{max}$ etishi uchun substrat konsentratsiyasi yuqori bo'lishi kerak. Substrat konsentratsiyasini ingibitorga nisbatan yuqori bo'lishi ingibirlanishni susayishiga olib keladi. Substrat konsentratsiyasini yanada ortishi ingibirlanishni butunlay yo'qolishiga olib keladi, chunki fermentning faol markazidagi molekulalar substrat bilan to'yingan bo'ladi.

Dori vositalar raqobatli ingibitor sifatida. Ko'pchilik dori vositalarning terapevtik mexanizmi konkurent ingibirlanishga asoslangan. Masalan, to'rtlamchi ammoniy asoslari asetilxolinni xolin va sirka kislotasigacha parchalanishini ta'minlovchi asetilxolinesterazaning ingibitori hisoblanadi. Muhitga ingibitorni kiritilishi asetilxolinesteraza fermenti faolligini pasaytiradi, natijada asetilxolin miqdori ortadi va nerv impulslarini o'tishi jadallashadi. Xolinesteraza ingibitorlari mushak distrofiyasini davolashda keng qo'llaniladi, masalan: prozerin, endrofoniy va boshqalar antixolinesteraza vositalari hisoblanadi.

Antimetabolitlar – dori vositalar sifatida. Tibbiyotda qo'llaniladigan antimetabolitlarning ko'pchiligi fermentlarning raqobatli ingibitori hisoblanadi. Bu birikmalar tabiiy substratlarning struktur analogidir va fermentlarni raqobatli ingibirlaydi. Shu bilan birga ular bu fermentlar tomonidan psevdosubstrat sifatida ishlatilishi mumkin, natijada nuqsonli moddalar sintezlanadi. Nuqsonli mahsulotlar funksional faollikga ega emas, natijada metabolik yo'llarning samaradorligi susayadi. Masalan, infeksiyon kasalliklarni davolashda sulfanilamid preparatlari qo'llaniladi, nukleotidlar analoglari esa onkologik kasalliklarni davolashda qo'llaniladi.

Fermentlarning qaytmas ingibitorlari dori vositalar sifatida. Nosteroid yallig'lanishga qarshi dori vositasi aspirinning farmakologik ta'siri siklooksigenaza fermentini ingibirlanishi bilan bog'liq. Siklooksigenaza araxidon kislotasidan yallig'lanish omillarini sintezlaydi. Kimyoviy reaksiya natijasida hosil bo'lgan aspirinning atsetil qoldig'i fermentning erkin NH_2 -guruhiga birikib siklooksigenazani ingibirlaydi. Natijada yallig'lanish omillari sintezi kamayadi.

11-MAVZU. QON ZARDOBI VA SO'LAKDA AST VA ALTFAOLLIGINI ANIQLASH Aminokislotalarning transaminlanishini o'rganish

Kimyoviy reaktivlar to'plami:

1) fosfat buferi 0,1 M (pH 7,4) eritmada;

2) 14,2 natriy gidrofosfat 1 l distillangan suvda eritiladi (0,1 M);

3) 13,6 g kaliy digidrofosfat 1 l distillangan suvda eritiladi (0,1 M);

4) bufer eritma tayyorlash uchun 840 ml 0,1M natriy gidrofosfat va 160 ml 0,1M kaliy digidrofosfat eritmalari aralashtiriladi.

Bajariladigan ish tartibi. 2 ta probirka olinadi va 4 chi reaktivdan 0,25 ml dan solinadi. 1-chi probirkaga 0,05 ml qon zardobi, 2-chi probirkaga 0,05 ml fiziologik eritma solinadi va 60 daqiqa davomida 37°C da inkubatsiya qilinadi.

Probirkalarga 0,25 ml dan reaktiv 2 solinadi va chayqatiladi.

Xona haroratida 15 daqiqa probirkalar qoldiriladi va ustiga NaOH 0,25 ml dan solinadi.

10 daqiqa probirkalar xona haroratida qoldiriladi.

1-chi probirkadagi suyuqliq 2 chi probirkaga nisbatan 530 nm to'lqin uzunligida FEK da o'lchanadi (2 chi probirkadagi aralashma nazorat bo'lib hisoblanadi).

**12-MAVZU. VITAMINLAR VA ULARNING KOFERMENTLIK
VAZIFALARI. YOG'DA ERUVCHI VITAMINLAR**
Ayrim yog'da eruvchi vitaminlarga xos sifatli reaksiyalar.
A vitamin(retinol)iga xos sifat reaksiyalar

A vitamini — kimyoviy tuzilish bo'yicha yaqin bo'lgan moddalar guruhi, ular retinol (A_1 vitamin A, akserofitol) va o'xshash biologik faollikka ega bo'lgan boshqa retinoidlar: degidratoretinol (vitamin A_2), retinal (retinen, A_1 vitamini aldegid) va retin kislota. Provitamin A' ga A vitaminining metabolik o'tmishdoshlari bo'lgan karotinoidlar kiradi; ular orasida eng muhim β - karotin hisoblanadi. Retinoidlar hayvonotdan kelib chiqishli, karotinoidlar esa o'simlikdan kelib chiqishli oziq-ovqatlarda uchraydi. Bu moddalarning barchasi qutbsiz organik erituvchi (masalan, moylarda) juda yaxshi, suvda esa yomon eriydi. A vitamini jigarda zaxiralanadi, to'qimalarda to'planishi ham mumkin. Peredozirovka holatlarida zaharli hisoblanadi.

Shveysariyalik kimyogar Paul Karrer (1889-1971) 1931-yilda A vitaminining kimyoviy tuzilishini tasvirlab berdi. Uning muvaffaqiyati 1937-yilda kimyo bo'yicha Nobel mukofoti bilan taqdirlandi. 1937-yilda Garri Xolms (1879- 1958) va Rut Korbet A vitamini kristallashdi. 1947-yilda David Adrian van Dorp (1915-1995) va Yozef Ferdinand Arens (1914-2001) vitamin A' ni sintezlashdi. Otto Isler (1920-1992) 1947-yilda sintez qilishning sanoat usulini ishlab chiqdi.

A vitamini — siklik (halqali) to'yinmagan bir atomli spirtidir. A vitamini molekulasining asosida β -ionon halqasi yotib, unga ikki molekula diyen karbonvodorod izopren qoldig'i va birlamchi spirt gruppasiga ega bo'lgan yon zanjir birikkandir.

aralashma oldin ko'k keyin binafsha va oxiri qizil-qo'ng'ir rangga bo'yaladi.

A vitaminning surma (Sb) xlorid bilan reaksiyasi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga bir necha ml baliq moyining xloroformdagi 10 % li eritmasidan quyilib, ustiga 10 tomchi sirka aldegidining va 10 ml xlorli surmaning xloroformdagi eritmasidan quyiladi.

Agarda aralashmada A vitamini bo'lsa, ko'k rangga bo'yalib keyin rangsizlana boshlaydi. Agarda aralashmada karotin va boshqa pigmentlar bo'lsa, u ko'k-yashil rangga bo'yaladi.

D vitamining xos bo'lgan sifat reaksiyalari

D guruh vitaminlari antiraxitik vitaminlardir. Odam va hayvon organizmida D vitaminining yetishmasligi raxit kasalligining kelib chiqishiga olib keladi.

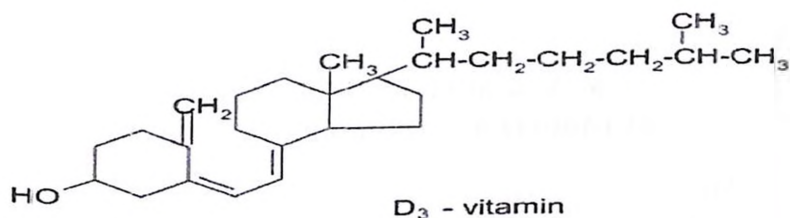
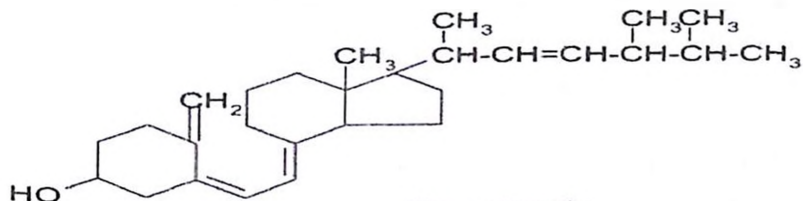
Hayvon organizmida D, D₁, D₂ va D₃ vitamini uchraydi, ulardan eng ahamiyatli D₂ va D₃ vitaminidir. Ular bir-birlaridan tarkiblariga kiruvchi uglevodorod zanjirlarining tuzilishi bilan farq qiladi.

Keyingi yillarda D vitaminlarning organizmdagi biokimyoviy roli juda mukammal o'rganilmoqda. D₃ vitamini o'z-o'zicha biologik aktiv modda emasdir. Lekin u biologik aktiv birikma sifatida tan olinadigan, gormonal aktivlikka ega bo'lgan (jigar va buyrakda sintezlanadigan) 1,25-digidroksixolekalsiferol deb ataluvchi kimyoviy birikmani sintezlanishida ishtirok etishligi aniqlangan. Buning uchun D vitaminlar ikki bosqichda, ya'ni avvalo jigarda, keyin buyrakda gid-roksillanadi va hosil bo'lgan 1,25 digidroksixolekalsiferol suyak to'qimalariga kalsiy va fosforlarning o'zlashtirilishini ta'minlaydi.

Amerikalik olim L. Leninjer fikriga ko'ra, quyosh nuri kam bo'ladigan mamlakatlarda katta yoshdagi odamlar sutkada 10 mk D vitaminlaridan iste'mol qilsa, yetarli deb hisoblanadi. Lekin ortiqcha,

taxminan 1,5 mg qabul qilinsa, u zararli ta'sir etadi.

Yuqoridagi ma'lumotlar asosida aytish mumkinki, D vitaminlarning asosiy tabiiy manbai ularning provitaminlari bo'lgan sterinlar hisoblanadi. D₂ vitaminining provitaminsini ergosterin achitqilarda, makkajo'xorining so'talagan paytida ko'p bo'ladi, boshqa o'simliklarda esa juda kam bo'ladi. Lekin bevosita D vitaminlarining tabiiy manbalari qatoriga baliq moyi, baliq uni,



tuxum sarig'i, sut kiradi.

D-vitaminning surma (III) xlorid bilan reaksiyasi

Ishning bajarilishi. Probirkaga 2-3 ml aniqlanayotgan yog'ning xloroformdagi 10% li eritmasidan solinib ustiga 10 tomchi sirka angidridi va 10 ml surma (III) xloridning xloroformdagi to'yingan eritmasidan quyiladi. Agarda aralashmada D vitamini bo'lsa, aralashma sariq rangga bo'yaladi.

D vitaminning brom bilan reaksiyasi

Ishning bajarilishi. Probirkaga 2-3 ml aniqlanayotgan yog'ning xloroformdagi eritmasidan va bromning xloroformdagi eritmasidan quyiladi. Agarda probirkadagi aralashmada D vitamini bo'lsa,

aralashma sariq-pushti ranggabo'yaladi.

D vitaminining anilin bilan reaksiyasi

Ishning bajarilishi. Probirkaga 1-2 ml aniqlanayotgan yog'ning xloroformdagi 10% li eritmasidan quyilib, ustiga teng miqdorda anilinning xlorid kislotali eritmasidan solinadi. Yaxshilab aralashtiriladi va doimo chayqatib turilib qaynaguncha qizdiriladi. Yana bir daqiqa qaynatiladi. Agarda aralashmada D vitamini bo'lsa sariq rangli emulsiya oldin yashil so'ngra esa qizil rangga bo'yaladi. 1-2 daqiqadan keyin probirkadagi emulsiya ikki qavatga ajraladi. Aralashmaning ostki qismi, ochroq bo'lsada A vitamini bo'lganligi sababli ochiq qizil rangga bo'yaladi, biroz turgandan keyin rang o'zgarib qoraya boshlaydi.

12-MAVZU. SUVDA ERIYDIGAN VITAMINLAR METABOLIZMI VABILOGIK FUNKSIYASI

Vitaminlar har xil kimyoviy tuzilishga ega bo'lib, oziq-ovqat mahsulotlarining tarkibiy qismini tashkil etadi. Oziq moddalarning tarkibida vitaminlarning yetishmasligi natijasida organizmlarda moddalar almashinuvijarayoni buziladi.

Vitaminlarning erituvchilarda erish xususiyatlari turlicha bo'lganligi sababli, ularning eruvchanligiga qarab quyidagi 2 guruhga bo'lib o'rganish qabul qilingan.

I. Yog'da eriydigan vitaminlar:

A vitamini (antikseroftalmik vitamin) D vitamini (antiraxitik vitamin)

E vitamini (ko'payish vitamini)

K vitamini (antigemoragik vitamin)

II. Suvda eriydigan vitaminlar:

B₁ vitamini (antinevritik vitamin) B₂ vitamini (riboflavin)

B₃ vitamini (pantoten kislota, antidermatik omil) B₅ vitamini (PP, antipellagrik vitamin)

B₆ vitamini (antidermatik vitamin)

B₁₂ vitamini (antianemik vitamin, siankobalamin) P vitamini (o'tkazuvchanlik vitamini)

C vitamini (antiskorbut vitamini, askorbin kislota) H vitamini (biotin, o'sish faktori)

Bc vitamini (fol kislota, antianemik vitamin) Xolin

Suvda eriydigan vitaminlar va ularning ko'pgina hosilalari hayvon organizmida ko'pincha suvli faza holatida bo'lib, organizmda to'planib turmaydi, shuning uchun oziqa bilan doimo iste'mol qilib turilishi shart.

Yog'da eruvchi vitaminlar esa yog'da va boshqa xil organik erituvchilarda yaxshi erish xususiyatiga ega bo'lib, organizmda yog'li birikmalar holatida ma'lum bir miqdorda to'planib turib keyin sekinlik bilan organizm ehtiyoji uchun sarflanishi mumkin.

Vitaminsimon moddalarga-xolin, lipoy kislota, pangam kislota, orot kislota, inozit, ubixinon, paraaminobenzoy kislota, karnitin, linol, linolen, araxidon kislota, vitamin U va boshqalar kiradi.

Ayrim suvda eruvchi vitaminlarga xos reaksiyalar.

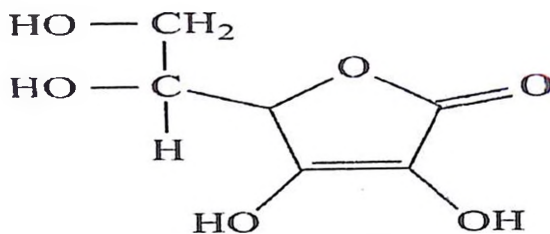
C- vitaminiga sifatli reaksiya

C vitamini kimyoviy qurilishi jihatidan L-askorbat kislota deb ataladi. U suvda juda oson eriydigan, oq kristal birikmadir. C vitaminining fiziologik ahamiyati, uning organizmda oksidlanish va qaytarilish jarayonlarida aktiv qatnashishidan iborat. C vitamini organizmda yetishmaganda singa kasalligi yuzaga keladi. Singada umumiy darmonsizlik, yurakning tez-tez urib turishi, hansirash, qon tomirlari devorlarining shikastlanishi, milklarning qonashi,

suyaklarning kuchsizlanib sinishi, tish suyaklarining yemirilishi va tishlarning qimirlab tushib ketishi kuzatiladi.

C vitaminining asosiy manbalari o'simliklardir. Qalampir, xren, qora smorodina, maymunjon, qulupnay, apelsin, limon, mandarin, karam, na'matak, qarag'ay, qora qarag'ay kabilar askorbat kislotaga boydir.

Odamlarning C vitaminiga bo'lgan ehtiyoji sutkasiga o'rtacha 50-100 mg ga to'g'ri keladi. Homiladorlik, emiziklik davrda (laktatsiyada), shuningdek yuqumli kasalliklarda (xususan silda) oraganizmning C vitamininga bo'lgan ehtiyoji ortadi.



**Askorbin kislota
(vitamin C)**

Askorbat kislotasiga xos oksidlanish va qaytarilish reaksiyalaridan uning sifat reaksiyalarini va miqdorini aniqlashda foydalaniladi.

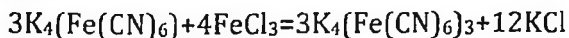
Kimyoviy tabiati jihatidan askorbat kislota geksozalarga yaqin, lekin to'yinmagan birikmadir. Boshqa kislotalardan molekulasida karboksil funksional gruppasining yo'qligi bilan farq qiladi.

C vitaminining qizil qon tuzi va temir xlorid tuzi bilan reaksiyasi

Ishning bajarilishi. Ikkita probirka olib, birinchisiga 2-3 ml tarkibida C vitamini bo'lgan eritma (pomidor, limon, karam suvi va h.k.) solinadi. Ikkinchi probirkaga deyarli shuncha miqdorda distillangan suv quyiladi. Ikkala probirkaga bir necha tomchidan qizil

qon tuzining 45% li eritmasidan va bir necha tomchidan temir xlorid tuzi eritmasidan tomiziladi.

Agarda aralashmada C vitamini bo'lsa, aralashma oldin ko'k rangga bo'yalib, keyin berlin lazurining: qoramtir-ko'k rangli cho'kmasi hosil bo'ladi. Ikkinchi probirkadagi eritma qo'ngir ranga bo'yaladi.



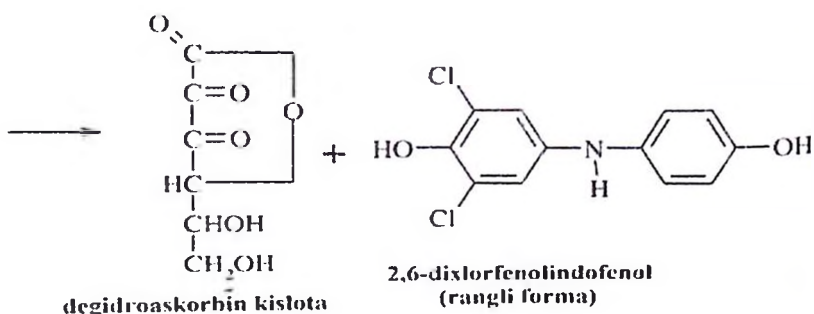
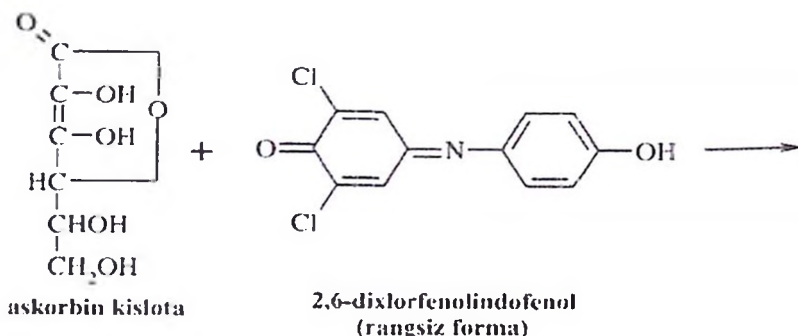
C vitaminining 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzi bilan reaksiyasi

Bu reaksiya askorbat kislota bilan 2,6-dixlorfenolindofenol rangli birikma o'rtasidagi oksidlanish va qaytarilish reaksiyasiga asoslangan.

Ishning bajarilishi. Ikkita probirka olib, aniqlanishi kerak bo'lgan (C vitamini tutuvchi) eritmadan 2 ml dan quyiladi. Probirkalarning biriga aralashmadagi C vitaminni parchalash uchun unga bir necha tomchi vodorod peroksid tomizilib qaynatiladi. Keyin ikkala probirkadagi aralashmalar ustiga 2 tomchidan xlorid kislotasining 10% li eritmasidan va 1 tomchidan 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzidan tomiziladi.

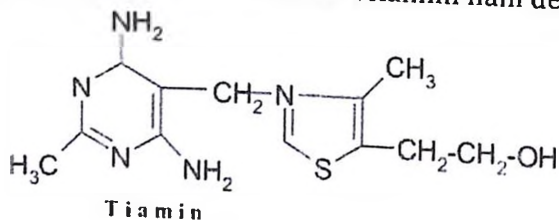
C vitamini bo'lgan probirkada aralashma rangsizlanadi. Probirkadagi aralashmaga yana biron indikatoridan tomizilsa, aralashma pushti rangga bo'yaladi, chunki aralashmada hamma askorbat kislota oksidlangan indikator boshqaqaytarilmaydi.

C vitaminni parchalangan probirkadagi eritma esa rangsizlanmaydi, hattoki bir ikki tomchi indikator tomizilishi bilan aralashma gulobi rangga bo'yaladi.



B guruh vitaminlariga xos sifat reaksiyalar

B₁ vitamini (tiamin, antinevrit vitamin) ning tiamin deb atalishiga sabab uning tarkibida oltingugurt (grekchada-tio) va aminogruppa (-NH₂) borligidadir. Organizmda bu vitaminning yetishmasligidan beri-beri yoki polinevrit, ya'ni nervlarning yallig'lanishi bilan bog'liq bo'lgan kasallik paydo bo'ladi. Shuning uchun ham bu vitamin antinevrit vitamini ham deb yuritiladi.



Riboflavinni B₂ vitamini ham deb yuritiladi. Organizmda o'sish va rivojlanishga ta'sir etadigan biologik aktiv modda. B₂ vitamini

hayvon organizmida jun to'kilishiga va ko'z kasalligiga olib keladi. Ko'z olmasi yallig'lanib, toladigan bo'lib qoladi. Shox pardada o'zgarishlar bo'la boshlaydi. Riboflavin tabiiy pigment bo'lib, sarg'ish yashil flyuoreyesensiyaga ega. Suvda yaxshi eriydi. Uning siklik strukturasi biologik aktiv xususiyatini hosil qiluvchi qo'sh bog'lar mavjud. Shu qo'sh bog'lar bor joyiga vodorod biriktirib olib, osongina leykobirikmaga aylanadi.

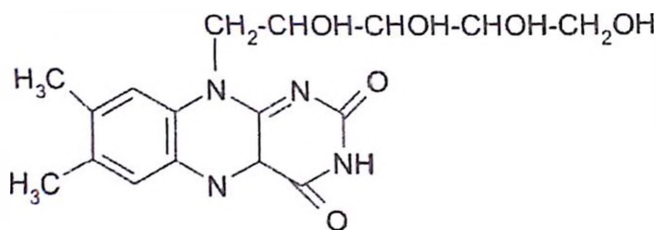
Shu leykobirikma tegishli sharoitlarda vodorodini berib yana rangli birikmaga aylanadi. Shu xususiyati uning oksidlanish-qaytarilish jarayolarida ishtirok etishga mumkin ekanligidan dalolat beradi.

Quyidagi reaksiya riboflavinning qaytarilib leykoflavin holatiga o'tishi va qaytadan vodorodini havo kislorodiga berib o'z holatiga, ya'ni rangiga o'tishiga asoslangandir.

B₂ vitaminining elementar tarkibi $C_{17}H_{16}O_2N_4(OH)_4$ dan iborat.

B₂ vitaminining yetishmasligiga ayniqsa yosh mollar tez beriluvchan bo'ladi. Bunday holatda ular o'sishdan qolib, organizmda har xil biologik oksidlanish jarayonlari va qon regeneratsiyasi buziladi hamda og'ir ichak kasalliklari paydo bo'lib, ich ketish holatlari ro'y beradi. Chunki yosh mollarda B₂ vitaminini sintezlaydigan ichak mikroflorasi yo'q. Ular B₂ vitaminni asosan sut bilan oladi.

Katta yoshdagi hayvon organizmlarida esa bu vitamin yetarli miqdorda ichak mikroflorasi tomonidan sintezlanib turadi, shuning uchun ham ularda B₂ avitaminozi deyarli uchramaydi.



Riboflavin

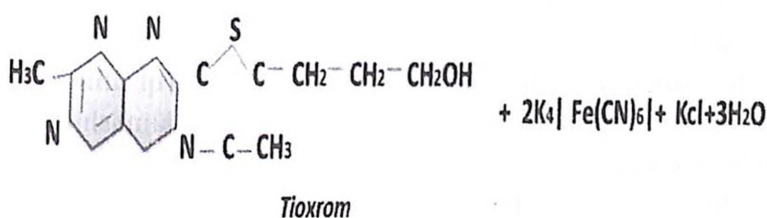
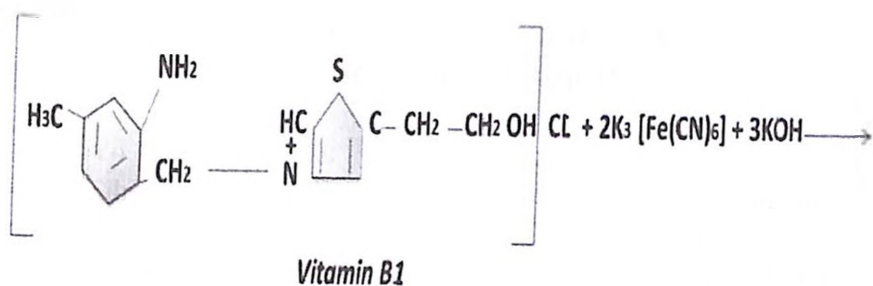
B₁ vitaminiga xos rangli reaksiyasi

Ishning bajarilishi. Probirkaga 1 % li sulfat kislota eritmasidan 5 tomchi va 5 % li natriy nitrit eritmasidan 5 tomchi tomizib, ozgina tiamin kukunidan qoʻshiladi. Shundan keyin probirka devori boʻylab 10 % li natriy bikarbonat eritmasidan 6 tomchi tomiziladi. Ikki qavat suyuqlik chegarasida toʻq sariq halqa hosil boʻladi.

B₁ vitaminni uchun diazoreaksiya. Tiamin (Vitamin B₁) ishqoriy muhitda diazoreaktiv bilan pushti rangli kompleks hosil qiladi. Sulfonil kislotaning 1 % li eritmasidan 0,5 % ml va natriy nitratning 5 % li eritmasidan 0,5 ml olib aralashiring (diazoreaktiv). Shisha tayoqchanning uchida tiamin kukunidan olib diazoreaktivga qoʻshing va 1 ml ni probirka devoir boʻylab quyding. Suyuqliklar chegarasida pushti rangli halqa hosil boʻladi.

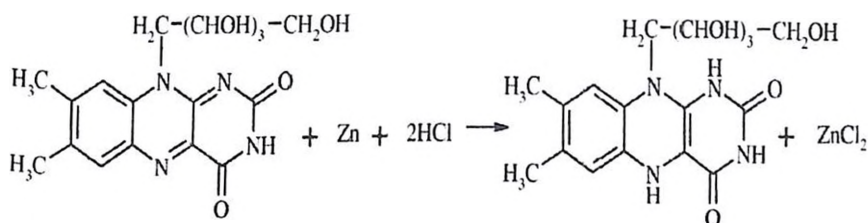
B₁ vitaminni tioxromgacha oksidlash. B₁ vitamin kaliy ferristianid taʼsirida sariq rangli pigment - tioxromgacha oksidlanadi.

Ishning borishi: Tiaminning 1% li eritmasidan 1ml olib, unga oʻyuvchi kaliyning 10% eritmasidan 2-3 ml qoʻshing. Aralashmaga kaliy ferristianidning 5% eritmasidan 1 ml quyib qizdiring. Sariq rang paydo boʻladi.



Riboflavinning qaytarilish reaksiyasi

Ishning bajarilishi. Probirqaga 10 tomchi riboflavinning 0,025% li eritmasidan solinib ustiga 5 tomchi konsentrlangan xlorid kislotasidan tomiziladi. Aralashma ustiga ruxning mayda bo'lakchasi tashlanadi. Bu vaqtda reaksiya ketib pufakchalar holatida vodorod ajralib chiqa boshlaydi, aralashma oldin asta sekinlik bilan pushti ranga bo'yalib, keyin esa rangsizlana boshlaydi. Probirkadagi aralashmani ikkinchi probirkaga quyib, qolgan ruxni ajratib olib probirkadagi aralashma chayqatilsa eritma qaytadan sarg'ish rangga o'ta boshlaydi.



13-MAVZU. OVQATLANISH BIOKIMYOSI. MODDALARALMASHINUVI

Sog'lom organizmda moddalar almashinuvini o'rganish, kasalliklarning sababini tushunish uchun zarur hisoblanadi. Ochlik, jismoniy zuriqish, homiladorlik va laktatsiya davrlarida normal metabolitik jarayon moslashishi muhimdir. Ovqat mahsulotlarining organizmga qabul qilinishi yetishmasligi, fermentlar faolligi o'zgarishi, gormonlar disbalansida metabolizmning buzilishi kuzatiladi. Shuning uchun kurilayotgan mavzu tibiyot amaliyotida turli kasalliklar patogenezi tushunishda katta ahamiyatga ega.

Tirik organizmning jonsiz tabiatdan asosiy farqi uning o'zini o'rab turgan tashqi muhit bilan modda va energiya almashinuvidir. Ovqatlanish va nafas olish organizmni tashqi muhit bilan bog'lovchi omil bo'libgina qolmay, balki modda va energiya almashinuvining asosiy bosqichlaridan hisoblanadi. Ovqatning asosiy komponentlari: oqsil, uglevod, lipidlar organizm uchun ham energetik manba, ham plastik material hisoblanadi. Organizmning kundalik energiyaga bo'lgan ehtiyojini

55 foizi uglevodlar hisobiga, 15 foizi oqsil va 30 foizi lipidlar parchalanishi (katabolizmi) hisobiga qoplanadi. Asosiy ozuqa moddalarning katabolizmini 3bosqichga bo'lish mumkin.

1. Katabolizmning spetsifik yo'li:

a) Ovqat hazm bo'lishi – ozuqa moddalarning oshqozon-ichak traktida so'rilishga tayyorlanishi, so'rilish – ingichka ichak shilliq pardasi orqali ozuqa moddalarning so'rilishi.

b) monomerlarning spetsifik parchalanishi.

2. Katabolizmning umumiy yo'llari

a) pirouzum kislotasi (piruvat) ning oksidlanishli dekarboksillanishi.

b) uchkarbon kislotalar sikli.

Nafas olish zanjirida proton va elektronlar tashilishida energiya hosil bo'lishi

Odam ovqatida ham organik, ham mineral kimyoviy birikmalar bo'ladi. Ovqat organik moddalarining juda katta qismini asosiy oziq moddalari – uglevodlar, lipidlar, oqsillar tashkil qiladi, bular ovqatning major komponentlari deyiladi. Ovqatning minor komponentlari ham mavjud bo'lib, ularga: vitaminlar, mineral moddalar kiradi.

Oziq moddalari almashinadigan va almashtirib bo'lmaydigan turlari bor. Almashinadigan moddalar organizmda boshqa moddalardan sintez bo'lishi mumkin. Masalan, lipidlar uglevodlardan, uglevodlar aminokislotalardan hosil bo'lishi mumkin. Almashtirib bo'lmaydigan oziq moddalari boshqa moddalardan sintez bo'lmaydi va shu sababli ovqat tarkibida bo'lishi kerak. Bular – aminokislotalar (valin, leysin, izoleysin, treonin, metionin, fenilalanin, triptofan, lizin); almashtirib bo'lmaydigan yog' kislotalar (araxidonat, linolat, linolenat); vitaminlar; mineral moddalar.

Organizmda moddalar avval bitta metabolitga aylanishadi, keyin shundan ikkinchi va hokazo metabolitlar hosil bo'lib boradi. Bu ketma-ket jarayonlarni metabolitik yo'llar deb ataladi.

Metabolizm – bu barcha metabolitik yo'llarning majmuasidir. Metabolizmda moddalar o'zgarishining ikkita asosiy tomoni – katabolizm bilan anabolizm tafovut qilinadi. Katabolizmda organik moddalar pirovard natijada karbonat anhidrid (CO_2) va suvga parchalanadi. Katabolizm ekzergonik (energiya ajraladigan) jarayondir. Anabolizm bu – oddiy moddalarning murakkab moddalarga aylanishidir. Anabolizm reaksiyalari endergonik (energiya sarflanadi) reaksiyalar jumlasiga kiradi; bular uchun katabolizm jarayonida hosil bo'lgan ATF energiya manbai bo'lib xizmat qiladi.

Metabolik yo'llar:

1. Markaziy metabolik yo'llar – bir-necha yuz gramm oqsillar, karbon suvlar, yog'lar parchalanishi natijasida CO_2 , H_2O va energiya

hosil bo'лади.

2. Ikkilamchi metabolik yo'llar – bu spesifik moddalarni hujayrada hosil bo'lishi. Masalan, gormonlar, toksinlar, kofermentlar va boshqalar. Ularning miqdori mglarda o'lchanadi.

3. Siklik metabolik yo'llar. Ular mikroorganizmlarga xos bo'lib, hujayra yonilg'isi sifatida oksalat ishlatishadi.

Xozirgi vaqtda 2000 dan ortiq fermentlar hujayra metabolizmida ishtirok etishi aniqlangan. Ularning bir qismi asosiy, boshqalari ikkilamchi metabolik yo'llarda ishtirok etadi. Ammo ularning barchasi bir-biri bilan uzviy bog'liqdir. Ularning sxematik ko'rinishi metabolik kartani tashkil qiladi.

Modda almashinuvi o'rganish yo'llari

Modda almashinuvini quidagi yo'llar bilan aniqlash mumkin:

1. Tirik organizmda.
2. To'qima yoki a'zolarida.
3. Xujayralarda.
4. Hujayra organellalarida.
5. Molekulalarda.

Oraliq metabolizmni o'rganish usullarini 3 guruxga bo'lish mumkin:

1. Tirik organizmda.
2. Analitik-dezintegrativ usul.
3. Sintetik usul.

Tirik organizmdagi usul izotoplar qo'llanilishiga asoslangandir. Bu usullar yordamida essensial ozuqa maxsulotlari to'g'risida muxim ma'lumotlar olingan.

Analitik-dezintegrativ usullar hujayra organoidlari yoki moddalarni ajratib olib, ularda kechadigan jarayonlarni o'rganishga asoslangan. Ammo bunda murakkab biologik bog'lanishlarni uzilishi kuzatiladi.

Sintez usullari ma'lum bir jarayonni suniy ravishda yaratishga asoslangan.

Bunda maxsus modellardan foydalaniladi.

14-MAVZU. KATABOLIZMNING UMUMIY YO'LLARI

Qon zardobi va siydikda pirouzum kislota miqdorini aniqlash

Usulning asoslanishi. Piruvat ishqoriy muhitda 2,4-dinitrofenilgidrazin bilan 2,4-dinitrofenilgidrazonning qizg'ish-qung'ir rangli kompleksini hosil qiladi. Rang intensivligi piruvat konsentratsiyasiga tug'ri proporsional.

Ishning borishi. 4 ta probirka olinadi. Birinchisiga 1 ml qon zardobi solinadi. Ikkinchisiga 1 ml siydik solinadi. 3- probirkalarga 1 ml puruvatning standart eritmasi, 4-probirkalarga 1 ml dan distillangan suv solinadi. Barcha probirkalarga 0,5 ml dan 2,4-DNFG ning 1 % li eritmasidan solib, 20 minut xona haroratida, qorong'i joyda qoldiriladi. Keyin probirkalarga 1ml dan 12% li NAOH qo'shiladi. 10minutdan sung rangli namunalar fotoelektrokolorimetrning ko'k nurida suv qarshisida, 5 mm li kyuvetada optik zichligi o'lchanadi.

Hisoblash:

$X = \frac{ac}{b}$ Bunda - X- namunadagi piruvat miqdori a-tajriba eritmasining optik zichligi
b-standart eritmasining optik zichligi c- standart eritmaning konsentratsiyasi

Tajribaning klinik - diagnostik ahamiyati. Sog'lom odam bir sutkada 10-25 mg piruvatni siydik orqali ajratadi. Bu ko'rsatgichning oshishi B₁ gipovitaminozida, jigar kasalliklarida, qandli diabetda, yurak dekompensatsiyasida, gipoksiyalar, toksikozlarda kuzatiladi.

Mushak suksinatdegidrogenaza (SDG) faolligini aniqlash

Usulning asoslanishi. SDG qaxrabo kislotasini oksidlab, 2,6-dixlorfenolindofenol (Tilmans reaktivi)ni qaytarib rangsizlantiradi. SDG raqobatli ingibitori malonat, bu reaksiyani tormozlaydi. Ishning borishi. 1-2 g mushak to'qimasi qaychi yordamida maydalanadi. Chinni havonchada suv bilan gomogen holatgacha eziladi. Hosil bo'lgan gomogenat 2 qavatli doka orqali voronkadan o'tkaziladi va 25 ml suvda yuviladi. Yuvilgan mushak gomogenati toza probirkaga solinadi va ustiga 4 ml suv solib shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi. Aralashma 3 qismga bo'linadi. Birinchi probirkadagi ferment faolligi qaynatib yo'qotiladi. 2 va 3 probirkalar qaynatilmaydi. Uchala probirkalarga 3ml dan fosfatli bufer (pH=7,4), 5 tomchidan 3% qaxrabo kislotasi, 5 tomchidan 0,1N NaOH, 3chi probirkaga 3% malonat, barcha probirkalarga Tilmans reaktividan 1 ml qo'shilib 15 minutga 37°C li termostatga qoldiriladi. Dixlorfenolindofenolning rangsizlanishi kuzatiladi.

15-MAVZU. BIOLOGIK OKSIDLANISH.

FOSFORLANISH VABILOGIK OKSIDLANISHNI BOSHQARILISHI

Spetsifik degidrogenazalar ta'sirida metabolitlarni fermentativ oksidlanishi jarayonida energiya ajralishi kuzatiladi. Degidrogenlanish reaksiyalarida organik substratlardan proton va elektronlar NAD- va FAD-bog'liq degidrogenazalar kofermentlariga o'tkaziladi. Yuqori energetik potensialga ega bo'lgan elektronlar qaytarilgan NADH₂ va FADH₂ kofermentlardan mitoxondriyalarning ichki membranasida joylashgan nafas olish zanjiri tashuvchilari orqali kislorodga o'tkaziladi. Kislorod molekulasi qaytarilishi 4 elektronni tashilishi hisobiga kechadi. Kislorod 2 elektronni birikishida matriksdan 2 protonni yutilishikuzatiladi va natijada suv hosil bo'ladi.

Nafas olish zanjiri bo'ylab elektronlarni o'tishida erkin

energiyasi kamayib boradi. Uning asosiy qismi ATF shaklida zaxiralanadi, qolgan kismi esa issiqlik energiyasi sifatida tarqaladi. Turli xil substrantlarni oksidlanishi natijasida hosil bo'lgan yuqori energetik potensialga ega bo'lgan elektronlar biosintez reaksiyalarida qatnashishi mumkin. Bunda ATF tashqari qaytarilgan ekvivalentlar, masalan NADPH_2 zarur bo'ladi.

Oksidlanayotgan substratdan elektronlarni kislorodga o'tkazilishi bir-necha bosqichda kechadi. Bunda juda ko'p oraliq tashuvchilar qatnashib, har biri elektronlarni oldingisidan olib keyingisiga o'tkazishi mumkin. Buning natijasida ketma-ket kechadigan oksidlanish-qaytarilish reaksiyalar zanjiri hosil bo'ladi. Buning natijasida kislorod qaytariladi va suv hosil bo'ladi.

Ubixinondan (KoQ) tashqari nafas olish zanjirining barcha komponentlari — oqsillardir. Bu oqsillar tarkibiga turli xil oqsil bo'lmagan birikmalar kiradi: FMN, temir-oltingugurt oqsillar tarkibida Fe, porfirin xalqasida Fe va Su ionlari.

Oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarining birlamchi akseptorlariga 2 xil degidrogenazalar: nikotinamidga bog'liq (RR vitamini xosilalari kofermentlari) va flavinga bog'liq (riboflavin xosilalari) kiradi.

Nikotinamidga bog'liq degidrogenazalar NAD^+ yoki NADP^+ kofermentlarini tutishi mumkin. Bu kofermentlar degidrogenazalarning faol markaziga kiradi, shu bilan birga ular reaksiya natijasida xolofermentdan qaytar dissosiasiyalanishi mumkin. NAD^- va NADP^- bog'liq degidrogenazalar substratlari mitoxondriyalarning matriksida va sitozolda bo'lishi mumkin. Nafas olish zanjiriga elektronlarni etkazib beruvchi degidrogenazalar NAD^+ tutadi.

Shunday qilib, NAD^+ turli xil substratlarning proton va elektronlarini qabul qilib, oksidlanayotgan moddalarning asosiy energiya kollektori va nafas olish zanjiri uchun yuqori energetik potensialga ega bo'lgan elektronlar manbai xisoblanadi. NADPH nafas olish zanjiriga elektronlar donori bo'lib hisoblanmaydi va faqat

qaytarilishli sintetik jaoayonlarda qatnashadi. Ba'zi hollarda NADPH elektronlar nafas olish zanjiriga elektronlar berishi mumkin.

Flavinga bog'liq degidrogenazalarning kofermenti bo'lib FAD (flavinadenindinukleitod) yoki FMN (flavinmononukleotid) hisoblanadi. Organizmda bu kofermentlar vitamin B₂ dan hosil bo'ladi. Flavinli kofermentlar apoferment bilan murakkab kovalent bog'langan. FAD ko'pchilik substratlarning elektronlar akseptori bo'lib xizmat qiladi. Ko'pchilik FAD-bog'liq degidrogenazalar - suvda eriydigan oqsillardir, ular asosan mitoxondriyalarning matriksida joylashgan. Faqatgina suksinat-degidrogenaza mitoxondriyalarning ichki membranasida joylashgan. FMN-tutuvchi fermentlarga mitoxondriyalarning ichki membranasida joylashgan NADH-degidrogenaza kiradi, u mitoxondrial matriksda hosil bo'luvchi NADH₂ ni oksidlaydi.

Elektronlarni NADH₂ dan O₂ tashuvchilarning barchasi mitoxondriyalarning ichki membranasida joylashgan. Ubixinon va sitoxrom c lardan tashqari, qolgan barchasi murakkab oqsilli komplekslaridir.

NADH₂-degidrogenaza (NADH-Q-reduktaza, kompleks I) bir-necha polipeptid zanjiridan iborat. FMN uning prostetik guruhi hisoblanadi. Bu fermentning yagona substrati — NADH₂, undan 2 elektron va proton FMN ga o'tkaziladi va FMNH₂ hosil qiladi. FMNH₂ elektronlar temir-oltirgururtli oqsillariga (FeS) o'tkaziladi. Bu oqsillar NADH₂-degidrogenaza molekulasida ikkinchi prostetik guruh vazifasini o'taydi. Bu oqsillardagi temir atomlari (gem bo'lmagan temir) bir-necha guruhlariga yig'ilib, temir-oltingugurt markazlarini hosil qiladi. FeS-markazlar oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarida qatnashuvchi ko'pchilik oqsillar (flavoproteidlar, sitoxromlar) tarkibiga kiradi. Xozirgacha 3 turdagi FeS-markazlar (FeS, Fe₂S₂, Fe₄S₄) aniqlangan.

NADH-degidrogenaza Fe₂S₂ va Fe₄S₄ turdagi bir-necha markazlarni tutadi. Bu markazlardagi temir atomlari elektronlarni ketma-ket qabul qilishi va berishi mumkin, bunda ular ferro- (Fe²⁺)

va ferri- (Fe^{3+}) xolatdarga o'tib turishi mumkin. Temir-oltingugurt oqsillardan elektronlar koferment Q (ubixinon) o'tkaziladi.

Bu yog'da eruvchi xinonning (*quinone*) nomi ingliz so'zining birinchi xarfidan olingan, ubixinon so'zi esa tabiatda keng tarqalgan ma'nosini bildiradi (*ubiquitous* — vezdesushiy). Ubixinon molekulari olingan manbalarga qarab uglerod zanjirlarining uzunligiga qarab farqlanadi. Sut emizuvchilardan olinganlari

10 izoprenoid zanjirlarini tutadi va Q_{10} deb belgilanadi. NADH-degidro- genazalardan FeS orqali elektronlar ubixironga o'tkaziladi va natijada gidroxinon xosil bo'ladi. Ubixinon NADH-degidrogenazalar va boshqa flavinga bog'liq degidrogenazalardan, jumladan suksinatdegidrogenazadan, elektronlar qabul qilgani sababli kollektorlik funksiyasini bajaradi.

Sitoxromlar yoki gemoproteidlar barcha turdagi organizmlarda uchraydi. Eukariot xujayralarda ular asosan mitoxondriyalar membranasida va ER joylashgan. 30 yaqin turli xil sitoxromlar mavjud. Barcha sitoxromlar tarkibiga prostetik gurux sifatida gem kiradi. Ularning turli-tumanligi quidagilarga bog'liq:

- Gem strukturasi turli xil yon zanjirlarning bo'lishi;
- Polipeptid zanjirlar strukturasi turli hilligi;
- Gemni polipeptid zanjiri bilan turlicha bog'lanishi.

Nurlarni yutish qobiliyatiga qarab sitoxromlar a, b, c turlariga bo'linadi. Har bir turning ichida o'ziga xos spektrai xususiyatlarga ega bo'lgan sitoxromlar bo'lib, ular raqamlar bilan belgilanadi (b , b_1 , b_2 va boshqalar).

Turli xil sitoxromlarning struktur xususiyatlari ularning oksidlanish- qaytarilish xususiyatlarini belgilaydi. Mitoxondrial nafas olish zanjirida 5 xildagi sitoxromlar bor (a , a_3 , b , c , c_1). Sitoxrom c mustasno, barcha sitoxromlar ichki mitoxondrial membrana murakkab komplekslar shaklida joylashgan.

QH_2 -degidrogenaza (koenzim Q-sitoxrom c -reduktaza, kompleks III) 2 turdagi sitoxromlardan (b_1 va b_2) va sitoxroma c_1 tashkil topgan. QH_2 - degidrogenaza ubixinondan elektronlarni

sitoxrom c o'tkazadi. III kompleksning ichida elektronlar sitoxrom b dagi FeS-markazlardan sitoxrom c_1 , so'ng sitoxrom c o'tkaziladi. Gem guruxlari, FeS-markazlar kabi, faqat bittadan elektron o'tkazadi. Shunday qilib, QH_2 molekulasidan 2 elektron sitoxrom b 2 molekulasiga o'tkaziladi. Bu reaksiyalar natijasida erkin radikalli oraliq maxsulot semixinon hosil bo'lishi mumkin. Sitoxrom b turida gem oqsil bilan kovalent bog'lanmagan, sitoxrom c_1 va c gem oqsil molekulasiga tioefir bog'lari bilan bog'langan. Bu bog'lar 2 sistein qoldig'iga gemning vinil guruhlarini qo'shilishidan hosil bo'ladi

Sitoxrom c — suvda eruvchi periferik membrana oqsilidir, molekulyar massasi 12500 D, 100 aminokislotalar qoldig'ini tutuvchi 1 polipeptid zanjiri va kovalent bog'langan 1 gem molekulasidan iborat.

Sitoxromoksidaza (kompleks IV) 2 turdagi aa_3 sitoxromlaridan tuzilgan, ularning har birida 1 kislorod bilan bog'lanish markazi bor. Sitoxromlari a va a_3 gem A deb nomlanuvchi temir-porfirin prostetik guruhlarini tutadi va c i c_1 sitoxromlaridan farqlanadi. U bitta metil guruxi o'rniga formil guruxini va vinil guruxi o'rniga uglevodorod zanjirini tutadi. Kompleks aa_3 boshqa sitoxromlardan farqli mis ionini tutadi. Mis ioni oqsil bilan Cu A-markazlarda bog'lanadi.

Sitoxrom aa_3 kompleksi kislorod bilan reaksiyaga kirishadi. Sitoxromoksidaza sitoxrom S elektronlarni kislorod tashiydi. Avval elektronlar a va a_3 sitoxromlardagi temir ionlari, so'ng sitoxroma a_3 mis ionlari qatnashadi. Kislorod molekulasida sitoxroma a_3 gemidagi temir bilan bog'lanadi. Demak, elektronlarni kislorodga berilishi ferment molekulasida kechar ekan. Kislorod molekulasining har-bir atomi

2 elektron va proton biriktirib suvni hosil qiladi.

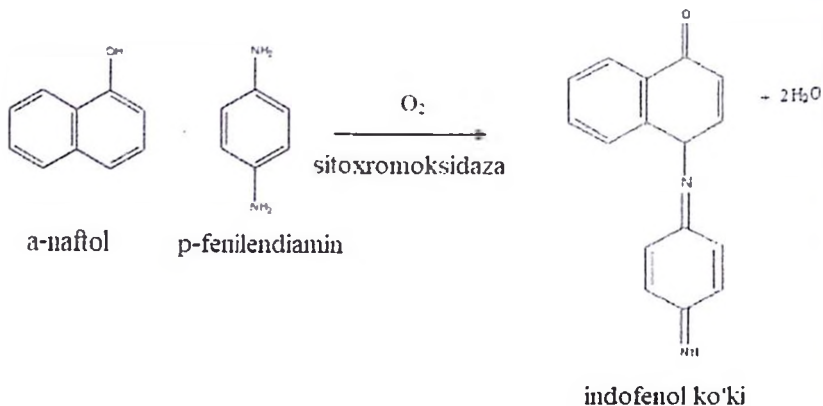
Mushak tarkibidagi makroergik birikmalar (ATF va kreatinfosfat) miqdorinianiqlash

Ishning bajarilish tartibi. 0,5 g mushak qiymasi olinadi. Probirkaga solinadi va muz hammomiga qo'yiladi. Ustiga UXSK

eritmasidan 5ml solinadi. ATFni ajratish uchun shisha tayoqcha bilan arashtiriladi, bunda kreatin-fosfat xam ajraladi. Eritma filtrlanadi. Qolgan mushak eritmasi past haroratda makroergik birikma ajratish uchun ushlab turiladi. Ekstrakt filtrlanadi va ustiga 10 ml dist.suv solinadi. 2 ta toza probirka olinadi, birinchi probirka nazorat, ikkinchi tekshiruv. Har biriga filtratdan 0,5ml solinadi. 1 chi probirkaga 1ml NaCl eritmasi solinadi. Probirkaga zar qogoz bilan berkitiladi. Probirka 10 daqiqa qizitiladi. Probirkasovitilgach 1 ml NaOH eritmasidan solinadi. Nazorat probirkasida qizdirilmasdan turib yuqoridagi jarayonlar olib boriladi, tekshiruv va nazorat tajribalari bir vaqtning o'zida olib boriladi. Ikkita toza probirkaga 5 ml filtratdan solinadi. 1 chisiga ammoniy molibdenat, 2 chisiga 0,5 ml askorbin kislota solinadi. Har biriga 2 ml dist.suv solinadi, 10 daqiqa xona haroratida saqlanadi. Nazorat va tekshiruv namunalari FEK qizil nurli filtrida tekshiriladi. Tekshiriluvchi probirkada aniqlangan anorganik fosfat kuchsiz bog'langan fosfat kislota va fosfat tuzlarining yigindisi hisoblanadi. Tekshiriluvchi suyuqlik uchun topilgan optik zichlik kursatkichi nazorat uchun topilgan optik zichlikdan ayiriladi. Kuchsiz bog'langan anorganik fosfatning tekshiriluvchi tajriba uchun miqdori oldindan tayyorlangan ulchov egri chizigidan topiladi.

Sitoxromoksidaza faolligini aniqlash

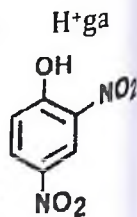
Usulning asoslanishi. To'qima qiymasiga a-naftol va p-fenilendiamin tomizilgandaindofenol ko'ki kompleksi hosil bo'ladi. Bu reaksiya sitoxromoksidaza bilan katalizlanadi:



Ishning bajarilish tartibi. Soat oynasiga yangi to'qima qiymasi, masalan, jigar yoki mushakni olinadi, unga 1 tomchi a-naftolning 1% spirtli eritmasi va 1% parafenilendiaminning suvli eritmasini qo'shiladi. To'qimalar kesmasida ko'k rangda bo'yash ko'rinishi unda faol sitoxromoksidaza mavjudligini ko'rsatadi.

Oksidlanish va fosforillanishning 2,4-dinitrofenol ta'sirida ajratilishini o'rganish

Ichki mitoxondriyal membranada ularning o'tkazuvchanligini pasaytiradigan moddalar (ionoforlar) mavjudligi, elektronlarni tashish jarayonidan oksidlovchi fosforillanishni ajratib turadi, chunki bu elektrokimyoviy potentsial hosil bo'lishini va natijada ATF sintezini buzadi. 2,4-dinitrofenol - lipofil kuchsiz kislota hisoblanadi, shuning uchun u membranadan (tashqi tomondan mitoxondriyaning ichki qismiga) osongina o'tib, teskari yo'nalishda ketayotgan tabiiy proton oqimini susaytiradi.



Ajratuvchilarga birinchi navbatda "protonoforlar" - vodorod ionlarini biriktirib oluvchi moddalar kiradi. Bunday holda, elektrokimyoviy gradientning ikkala komponenti ham kamayadi. Klassik protonofor - bu mitoxondrial membrananing tashqi yuzasiga

vodorod ionlarini biriktirib, ularni ichki yuzasiga chiqaradigan yog'da eruvchan birikma – 2,4-dinitrofenol. Protonoforlar bir vaqtning o'zida energiyasi issiqlik sifatida tarqaladigan proton gradiyentining elektr va kimyoviy qismlarini kamaytirad. Fiziologik protonoforga maxsus oqsil – termogenin kiradi. Bundan tashqari protonoforlarga salitsilatlar,

dikumarol, yog 'kislotalari, bilvosita bilirubin, triyodotironin, tiroksin.

Ishning asoslanishi: Oksidlanish va fosforillanishning jadalligi malat+ mitoxondriya suspenziyasi aralashmasida ATF sintezi uchun sarflanuvchi noorganik fosfat miqdori kamayishi bilan izzohlanadi. Noorganik fosfat molibden reaktivi bilan aniqlanadi.

Ishning borishi: 2-ta probirka olinib: 1chisiga (nazorat) – 1ml inkubasion aralashma, 0,02ml ADF, 0,5ml malat, 0,5ml 0,9% NaCl, 0,5ml mitoxondriya suspenziyasi; 2chi probirkaga (tajriba) - 1ml inkubasion aralashma, 0,02ml ADF, 0,5ml malat, 0,5ml 2,4-dinitrofenol, 0,5ml mitoxondriya suspenziyasi solinib aralashtiriladi va 15minut xona temperaturasida qoldiriladi. Probirkalarga 1ml dan 10% uchxlorsirka kislota qo'shiladi. Aralashmalar toza probirkalarga filtrlanadi va ularda noorganik fosfat miqdori aniqlanadi. Buning uchun 1ml 2,5% molibden reaktivi va 0,5ml 0,5% eikonogen eritmasi (askorbat) qo'shiladi, aralashtirilib xona temperaturasida 5 minut qoldiriladi. Namunalar rangi taqqoslanib, xulosa qilinadi.

16-MAVZU. KARBONSUVLAR ALMASHINUV, KARBONSUVLARNINGHAZMLANISHI. GLIKOLIZ, GLIKOLIZNING AHAMIYATI, GLYUKOZA BIOSINTEZI, GLIKOLIZ VA GLYUKONEOGENIZ BOSHQARILISHI

To'qima va hujayralarda glukozaning doimo sarflanib turishiga va oziqlangandan so'ng ichaklardan so'rilishiga qaramay qon tarkibida glukozaning miqdori bir me'yorda saqlanadi (3,3-5,5 mmol/l, 60-100 mg/dl). Qon tarkibidagi qand miqdorining deyarli

o'zgarmas miqdorda saqlanishi murakkab boshqarish mexanizmlariga asoslangan. Bu mexanizmlar markaziy nerv (MNS) va endokrin sistemasi tomonidan amalga oshiriladi. Bu o'rindajigaming faoliyati muhim ahamiyatga ega. Ayrim kasalliklarda (qandii diabet) qondagi qand miqdori me'yoridan 2-3 barobar ortadi. Bunday holatni giperglukozemiya deyiladi. Qand miqdorining me'yoridan kamayishi gipoglikemiya holati deyiladi. Qand miqdori o'zgarganini bilish kasallikni aniqlashda amaliy ahamiyatga ega.

Glyukozaning mushak to'qimasida kislorodsiz sharoitda oksidlanishi

Usulning asoslanishi: sut kislotasi sulfat kislotasi ta'sirida sirkas aldegidga aylanib, veratrol (pirokateksinning dimetil efiri) bilan o'zaro reaksiyaga kirib rangli birikma hosil qilishiga asoslangan.

Ishning borishi: 1. Glikoliz uchun eritma tayyorlash. Tajriba va nazorat probirkalariga pH=8 bo'lgan fosfat bufer eritmasidan 3 ml va 1% glyukoza eritmasidan 1 ml solinadi aralashtiriladi. Ikkinchi probirkaga fermentativ reaksiyani tuxtatish uchun 10% UXSK eritmasi solinadi. Eritmalarga mushak qiymasidan 1g solinadi. Eritmalar aralashtiriladi va uning kislorod bilan ta'sirlanishini cheklash uchun eritmalar ustiga 10 tomchidan vazelin solinib, 37 darajada termostatga 90 minutga qo'yiladi.

2. Oqsillarni chuktirish. Probirkalar termostatdan olinada va reaksiyani tuxtatish uchun 1chi probirkadagi eritmaga 1 ml 10% UXSK eritmasi solinadi. Oqsillar chukmaga tushadi eritmalar toza probirkalarga filtrlanadi.

3. Uglevodlarni chuktirish. Filtratga CuSO_4 yarim tuyintirilgan eritmasidan 1ml va Ca(OH)_2 0,5g solinadi. Probirkalar qopqoq bilan berkitilib, 15minut chayqatiladi. Eritmalar filtrlanadi.

4. Sut kislotani aniqlash. Filtrat solingan probirkalar muz xammomida sovitiladi va extiyotlik bilan H_2SO_4 (kons.) tomiziladi.

Aralashmaning isishiga yo'l quymaslik kerak. Sut kislotasini oksidlanishini tezlashtirish uchun probirkalar 100°C 4minun qutsyilib, tezda sovitiladi. Sovitilgan aralashmaga veratrolning 0,1% spirtli eritmasidan 1-2 tomchi solinib, 1-3 minut chayqatiladi. 1chi probirkada mushak fermentlari ta'sirida glikoliz reaksiyasi o'tgani uchun sut kitslota to'q pushti rangnihosil qiladi. Nazorat probirkada esa tadriba boshlanguncha bo'lgan sut kislota och pushti rangga kiradi.

17-MAVZU. QONDA QAND MIQDORINI ANIQLASH

Qondagi glyukoza miqdorini o-toluidin rangli reaksiyasi usuli bilananiqlash

Usulning asosi glukozaning sirka kislota ishtirokida o-toluidin bilan rangli eritma hosil qilishi va uning optik zichligi o'lchanishiga asoslangan. Rangning zichligi glukozaga miqdoriga to'g'ri keladi. Glukozani aniqlash uchun qon oqsillardan tozalanishi kerak. Ushbu usul bilan faqat haqiqiy glukozaga miqdori aniqlanadi, chunki o-toluidin glukozaga o'xshash moddalar bilan (glutation, glukuron, askorbin kislotalar; rangli birikma hosil qilmaydi.

Bajariladigan ish tartibi. Bitta sentrifuga probirkasi va ikkita oddiy probirkaga 1,8ml 3%li UXSK eritmasi solinadi. Birinchi probirkaga 0,2 ml qon, ikkinchisiga 0,2 ml glukozaning doimiy eritmasi, uchinchisiga 0,2 ml suv solib aralashtiriladi. Qon solingan probirkaga 10 daqiqa davomida daqiqasiga 2500-3000 marta aylanadigan sentrifugada aylantiriladi. Cho'kma yuqorisidagi suyuqlik boshqa probirkaga olinadi. Oqsil cho'kmasini filtrlash ham mumkin. Shuningdek ikkinchi va uchinchi probirkalardagi suyuqlik ham toza probirkalarga olinadi.

0,5 ml oqsilsiz suyuqlik solingan probirkalarga 4,5 ml o-toluidin eritmasi solinadi va probirkalar zar qog'oz bilan berkitilib, qaynab turgan suv hammomiga 8 daqiqaga joylashtiriladi. Qaynash

jarayonida eritmalar rangli tus oladi. Bir ozvaqt o'tgach, probirkalar suv hammomidan olinib, suv oqimida sovutiladi. Ko'k rangli eritmalar 670 nm to'lqin uzunligida fotoelektrokolorimetrlanadi. 1 sm qalinlikdagi kuvetalar ishlatiladi. Tekshiruvchi eritma nazorat eritma qarshisida ko'riladi. FEK ko'rsatkichlari quyidagi tenglamaga qo'yilib, glukoza miqdori topiladi:

$X = ac/bX$ - qondagi qand miqdori mmol/1 birligida;

c - doimiy eritmadagi glukoza miqdori, mmol/1; a - tekshiruvchi (qon) eritmaning optik zichligi; b - doimiy eritma optik zichligi

Qondagi glyukoza miqdorini antron usuli bilan aniqlash

Antron usuli bilan qon tarkibidagi «haqiqiy qandlarni» va poliglukozidlarni aniqlash mumkin. Bu usul 60-100 mg/dl, 3,3-5,5 mmol/1 ga teng bo'lgan glyukozamiqdorini aniqlashga imkon beradi.

Usulning asosi. Glukoza konsentrlangan sulfat kislota ta'sirida hosil bo'lgan gidroks metilfurfurol antron bilan kislotali sharoitda qizdirilganda yengil kondensatsiyalanadi va ko'kimtir-yashil rangli birikma hosil qiladi. Rangning zichiigi glukoza miqdoriga to'g'ri keladi.

Bajariladigan ish tartibi. 1.1,8 ml UXSK eritmasi solingan to'rtta probirkaning ikkitasiga 0,2 ml qon (tekshiruvchi), ikkitasiga 0,2 ml distillangan suv (nazorat) solinadi.

2. Tekshiruv probirkalari oqsilni cho'ktirish uchun daqiqasiga 3000 marta aylanadigan sentrifugaga joylashtirilib, 10 daqiqa aylantiriladi. So'ngra cho'kma yuqorisidan suyuqlik boshqa probirkalarga olinadi. Oqsillarni filtrlash yo'li bilan ham olib tashlash mumkin.

3. Ikkita probirkaga tekshiruv eritmasidan 0,5 ml, ikkitasiga nazorat eritmasidan 0,5 ml olinib, ustiga asta-sekin 1 ml konsentrlangan sulfat kislota va 2 ml antron reaktivi solinadi. Eritmalar asta-sekin aralashtiriladi. Eritmalar qiziydi. So'ng probirkalar zar bilan berkitilib, qaynab turgan suv hammomida 10 daqiqa qizdiriladi.

4. Probirkalar suv hammomidan olinib, sovutilaai. So'ng tekshiruv eritmalar nazorat eritmalar qarshis. Ja FEK ning 670 nm to'lqin uzunligida (qizil rang) kolorimetrlanadi. Glukozaning mmol/1 birligidagi miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan topiladi.

Qondagi glyukoza miqdorini fermentativ usulda aniqlash

Usulning asosi. Glukozooksidaza fermenti ta'sirida glukozaga o'ziga xos holda oksidlanadi. Ushbu ferment D-glukozaga nisbatan yuqori tanuvchanlik xossasini namoyon qiladi. Glukozooksidaza (K.F 1.1.3.4) - murakkab ikki qismli ferment bo'lib, lining faol markazi vazifasini FAD koferment o'taydi. U FAD glukozaning birinchi uglorod atomidan ikkita vodorodni olib, kislorodga uzatadi va glukozaga ekvimolekular miqdorda vodorod peroksidni hosil qiladi. Natijada glukozaga D- glukonolaktonga aylanadi. Hosil bo'lgan H_2O_2 osimlik peroksidazasi ishtirokida o-toluidinni oksidlab, o'zi qaytariladi va ikki molekula suvga parchalanadi. Qaytarilgan o-toluidin rangsiz, oksidlangani esa och-ko'kimtir rangli bo'ladi. Demak, hosil bo'lgan rangning zichligi glukozaga miqdorigato'g'ri keladi. Rangning zichligi FEK da o'lchanadi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Qon oqsilini cho'ktirish. Ikkita sentrifuga probirkasiga 0,9% li natriy xlorid eritmasidan 1,0 ml, rux sulfatning 5% li eritmasidan 1,0 ml, natriy gidroksid eritmasidan 0,4 ml solib aralashtiriladi va ustiga 0,1 ml qon quyiladi. Eritmalar yaxshilab chayqatiladi. 10 daqiqadan so'ng oqsillar daqiqasiga 2500-3000 marta aylanadigan sentrifugada cho'ktiriladi. Cho'ktirish jarayoni 10 daqiqa davom etadi.

2. Toza va quruq probirkaning birinchisiga (tekshiruv) 1,0 ml oqsilsiz qoneritmasi, ikkinchisiga 1,0 ml distillangan suv (nazorat) solinadi. Unga xona haroratida ichitilgan ishchi reaktivdan 3,0 ml solib, probirkalar xona haroratida 15 daqiqa saqlanadi. Bu vaqtda reaksiya natijasida eritmalar rangli tusga kirishadi. Eritmalar ranglarining zichligi 670nm to'lqin uzunligida FEK da o'lchanadi. Tekshiruv eritma nazorat eritmasi qarshisida ko'riladi. Glukozaning

miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan topiladi.

O'lchov egri chizig'ini tayyorlash. 37°C da qitilgan kimyoviy toza (to'yintirilgan benzoy kislotada 500 mg glukoza eritiladi) 1,0 ml doimiy eritma tarkibida 5 mg glukoza bo'ladi. Turli miqdordagi glukoza eritmalarini tayyorlash uchun qator probnkalarga 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 ml asosiy glukoza eritmasi solinadi. Ularning hajmi distillangan suv bilan tenglashtiriladi. Glukoza miqdorini aniqlash yuqorida berilgan ish tartibi asosida olib boriladi. So'ngra har bir glukoza eritmasi uchun optik zichlik aniqlanadi. Optik zichlik «E» ordinata o'qiga, glukozaning miqdori absissao'qiga yoziladi. Tutashgan nuqtalar bo'yicha chiziq o'tkaziladi. Shu chiziq o'lchov egri chizig'i hisoblanadi. Ushbu usul qondagi qand miqdorini 3,1-5,2 mmol/l (56-94 mg) qon zardobi va plazmasini 3,05-5,55 mmol/l (55-100 mg), orqamiya suyuqligidagi qand miqdorini, 2,77-3,88 mmol/l (50-70 mg) gacha aniqlashga imkon beradi.

18-FRUKTOZA VA GALAKTOZA ALMASHINUVI, KARBINSUVLAR GORMONLAR ORQALI IDORA ETILISHI, PENTOZAFOSFAT YO'LINING AHAMIYATI, GLIKOPROTEIN VA PROTEOGLIKANLAR

Qondagi qand miqdori markaziy nerv sistemasi (MNS) va endokrin sistemasi tomonidan boshqariladi. Qondagi qand miqdori vaqtincha o'zgarib tursada, uning miqdori me'yorida saqlanadi. Qisqa vaqt qand miqdorining ortishi - giperglukozemiya ayajonlanish, kuchli og'riq natijasida ro'y beradi. Qand miqdorining ortishi qonga adrenalin va kortikotropin gormonlari ajralishi bilan bog'liq. Karbonsuvlarga boy bo'lgan mahsulotlar iste'mol qilinganda ham vaqtincha fiziologik giperglukozemiya kuzatiladi. Turg'un giperglukozemiya holati me'da osti bezining Langergans

orolchalarining β -hujayralari shikastlanishi tufayli hosil bo'lgan insulin yetishmovchiligining natijasidir. Qondagi qand miqdorning me'yoridan kamayishi gipoglukozeziya holati deyiladi. Bunday holat insulinning me'yoridan ko'proq ajralishi giperinsulinemiya), buyrak usti po'stloq qismining vazifasi buzilishi natijasida, Adison kasalligida va miyaning qand markazi joylashgan qismida bo'lgan o'sma natijasida ro'y beradi.

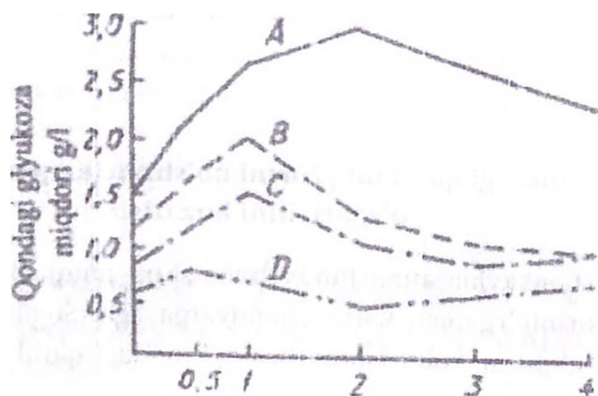
Qondagi qand miqdorini qo'shimcha qand berganda o'zgarishini kuzatish

Karbonsuvlar almashinuv buzilishini aniqlashda qo'snimcha qand ta'sirini o'rganish katta ahamiyatga ega. Sog'lom organizmga 50-100g glukoza yuborish natijasida qondagi qand miqdori ortadi. Ammo vaqt o'tishi bilan qon tarkibidagi qand yana o'z holatiga qaytadi

Qandli diabetning yashirin turida qo'shimcha qand yuborilgandan keyingi giperglukozeziya holati ancha vaqtgacha yuqoriligicha qoladi. Bunga sabab glukozaning glikogenga aylanishga ulgurmaganligidir. Demak, glukozaning qondagi miqdori ortishiga javoban insulin gormoni ishlab chiqarilishi buziladi. Odatda glukozaning qondagi ortiqcha miqdori 90-120 daqiqa ichida o'z holiga keladi. Lekin ayrim kasalliklarda, masalan, qandli diabetda, akromegaliya, gipertireoz, gepatit, jigar sirrozi va glikogen kasalliklarida qondagi qand miqdori keskin ko'tarilgan bo'lsa (22,2 mmol/l), uning asli holiga qaytishi ancha susayadi.

Bajariladigan ish tartibi: Qon barmoqdan nahorga olinadi. So'ngra 100 g shakar eritilib, bemorga ichirilaoui yoki 1 kg vaznga 1,0-1,5 g hisobidan glukoza eritnasi venaga yuboriladi. Qo'shimcha qand yuborilgandan so'ng qon har 30, 60, 90, 120 daqiqada aniqlaniladi. Olingan natija asosida egri chiziq chiziladi. Buning uchun absissa o'qiga qon olingan vaqt, ordinata o'qiga esa topilgan qon miqdori mmol/l hisobida yoziladi. Tutashgan nuqtalar orasidan chiziq o'tkaziladi. Bu chiziq «qand egri chizig'i» deyiladi. Qand egri chizig'ini

analiz qilishda: a) boshlang'ich qand miqdori; b) qon tarkibidagi qand miqdorini oshish tezligi va uning maksimal ko'tarilish darajasi; g) giperglyukozemiyaning davomiyligi va pasayish tezliklari e'tiborga olinadi



Ortiqcha qand berilgandaqand egri chizig'i.

A - qandli diabet; B - gipertireoz; C - me'yor; D - Addison kasalligi, giiotireoz yokigiperinsulinsiya

19- MAVZU. LIPIDLAR ALMASHINUVI. LIPIDLARNING HAZMLANISHI, SO'RILISHI VA TASHILISHI

Yog' to'qimasi umumiy massasining 90% yaqini yog'lar ulushiga to'g'ri keladi. Yog' hujayrasi hajmining ko'p qismini yupqa sitoplazma qatlami bilan o'ralib turadigan yog' tomchisi tashkil etadi. Yog' hujayrasida yadro, mitoxondriyalar va boshqa hujayra strukturalari bo'ladi. Yog'lar lipoproteidlardan olib kelingan yog' hujayralarining o'zida glyukozadan hosil bo'ladi.

Lipoproteidlarning yog'i lipoproteidlipaza ta'sirida yog' to'qimasi kapillyarlarida parchalanadi. Yog' kislotalari yog' hujayralariga o'tib, bu hujayralarida yana triatsilglitserinlar tarkibiga qo'shilib ketadi: bunda yog' hujayralarida glyukozadan hosil

bo'ladigan a-glitserofosfatdan foydalaniladi.

Depolarda to'planib turgan yog'lar yog' hujayralaridagi lipazalar ta'sirida yog' kislotalar hamda glitseringacha gidrolizlanishi yo'li bilan safarbar bo'ladi. Yog' kislotalari qonga tushib, bu yerda albumin bilan nokovalent birikmalar hosil qiladi va bu shaklda qon o'zini bo'ylab tashib boriladi. Glitserin erigan holatda tashiladi va asosan jigarda ushlanib qoladi. Jigarda glitserin -glitserofosfatga aylanadi. U glyukoneogenez reaksiyasiga kirishishi yeki glikoliz reaksiyalari bilan katabolizmning umumiy yo'li reaksiyalarida oksidlanishi mumkin.

Qondagi yog' kislota konsentratsiyasi katta emas. Barcha qon lipidlarning atigi 1-3% ularning ulushiga to'g'ri keladi, xolos. Qondagi yog' kislotalarning yarim umri ham juda qisqa - atigi 2-4 minut. Yog' kislotalari yog' to'qimasidan ist'emolchi organlarga jadal oqim bo'lib o'tib turadi, degan ma'noni anglatadi. Bu oqim tezligi yuqori bo'lganligidan tashib berilayotgan modda konsentratsiyasi past bo'lgan taqdirda ham talaygina miqdorda - sutkasiga 150 g atrofida yog' kislotalaryetkazib berishini ta'minlaydi.

Qon zardobidagi umumiy lipidlarning aniqlash usuli

Ishning bajarilish tartibi. Probirkaga qon zardobi (0,1 ml tekshiruv), kons. sulfat kislota (5,0 tekshiruv va nazorat tajribaga) va distillangan suv (0,1 nazorat) qo'shiladi. Probirkadagi suyuqlik aralashtiriladi va 10 daqiqaga suv hammomiga joylashtiriladi. Sovutilgach 0,2 ml gidrolizat quruq probirkaga olinadi va ustiga 3ml fosforvanilin solib 45 daqiqa xona haroratida qoldiriladi. Hosil bo'lgan rangli eritmaning zichligi nazorat eritmasi qarshisida yashil nur filtrida kolorimetrlanadi.

20-MAVZU. LIPAZA FAOLLIGIGA O'T KISLOTA TA'SIRI

Yog'lami ichakda glitserin va yuqori yog' kislotalariga parchalanishi asosan me'da osti bezidan ajraluvchi lipaza, qisman

ichak shilliq bezlarida ishlanadigan lipazalar ishtirokida bajariladi. Lipaza ta'sirida triglitseridlardan a- holatidagi yog' kislota qoldiqlari ajralib chiqadi.

Hosil bo'lgan β -monoglitserid avval a-monoglitseridga izomerlanadi, so'ngra u ham lipaza ta'sirida glitserin va yog' kislotasiga parchalanishi mumkin. Natijada triglitserid glitserin va uch molekula yog' kislotasiga bo'linadi.

Lipazani yog'ga ta'sir qilishida jigarda hosil bo'ladigan o't kislotalarini qatnashishi zarur. O't kislotalari yog'lami emulgirlab, ulami lipaza ta'siriga berilishini oshiradi. Shuning uchun ham tekshirishda sut qulay material hisoblanadi, chunki sutda yog' emulgirlangan holatda bo'ladi. Lipaza manbayi sifatida me'da osti bezi ekstraktidan yoki quritilgan pankeratindan foydalaniladi.

Tajriba sut yog'ini lipaza ta'sirida glitserin va yog' kislotalariga parchalanishiga asoslangan. Yog' kislotalari reaksiya muhitini kislotali tomonga surgani uchun uni ishqor bilan titrlab aniqlanadi.

Tajriba sut yog'iga ta'sir ko'rsatishi mumkin bo'lgan uchta yo'lni nazarda tutadi:

- 1) o't qo'shilmagan lipaza;
- 2) o't qo'shilgan lipaza;
- 3) lipaza qo'shilmagan o't.

Ishni bajarilishi: 1. Kolbaga 20 ml sut quyib, tarkibidagi nordon tuzlari bergan kislotalik xususiyati neytrallanadi. Buning uchun kolbaga 2 tomchi 1% li fenolftaleinning 2 tomchisi va 4 tomchi 10% li o'yuvchi natriy (ortiqcha bo'lmasligi kerak) tomiziladi va aralashtirilib turilgan holda ehtiyotlik bilan kolbadagiga o'yuvchi natriyning 0,1N eritmasidan och pushti rang hosil bo'lguncha qo'shiladi.

2. Neytrallangan sutdan konussimon kolbalarda jadval bo'yicha tajriba namunalari tayyorlanadi va yaxshilab aralashtirilib, xona haroratida qoldiriladi.

Sut yog'ini lipaza bilan gidrolizlash

Namunalar	Sut, ml	Pankreatin, mg	O't, ml	Suv, ml
1	5	100	-	1
2	5	100	1	1
3	5	-	1	1

3. Inkubatsiya boshlanishidan 15 daqiqa o'tgach, namunalar byuretkadagi 0,1N NaOH eritmasi bilan och pushti ranggacha titrlanadi, so'ngra yana xona haroratida qoldiriladi. Sarflangan ishqori miqdori jadvalga yoziladi.

4. Inkubatsiya boshlanishidan o'tgan 15, 30, 45 va 60 daqiqalarda namunalarni titrlash qaytariladi. Har bir titrlashda, ya'ni 15 daqiqa vaqt oralig'ida lipaza ta'sirida sut yog'ini gidrolizi natijasida

ajralayotgan yog' kislotasi miqdori aniqlanadi. Ishni rasmiylashtirishda har bir namuna uchun yog'ning lipaza ta'sirida parchalanish dinamikasini grafik ko'rinishida ifodalanadi.

Abssissa o'qiga vaqt daqiqalari, ordinata o'qiga shu vaqt ichida (15,30,45, 60 daqiqalar) hosil bo'lgan yog' kislotalarini neytrallashtirish uchun sarf qilingan natriy gidroksidning 0,1 n eritmasini mldagi miqdori qo'yiladi. Lipaza faolligi tekshirish vaqti davomida 100 ml sutdan hosil bo'lgan yog' kislotalarining karboksil guruhining miqdori quyidagi formula bo'yicha belgilanadi:

$$X = a \cdot 0.1 / 5$$

Bunda:

X — 100 ml sutdan hosil bo'lgan mg% dagi COOH guruhi konsentratsiyasi; 0,1 - natriy gidroksid eritmasi normalligi;

a — 5 ml sutni butun inkubatsiya vaqti davomida titrlash uchun sarflangan 0,1 n natriy gidroksid eritmasining ml dagi miqdori; 5 - titrlanuvchi namunadagi sutning ml dagi miqdori.

21-MAVZU. LIPIDLAR ORALIQ ALMASHINUVI

Me'da osti bezi fosfolipazalarining ta'sirini aniqlash

Usulning asoslanishi: Fosfolipazlarning mavjudligi fosfolipidlarning gidrolizlanishi natijasida ajralib chiqqan H_3PO_4 ning paydo bo'lishi bilan tasdiqlanadi. Noorganik fosfat molibden reaksiyasi bilan aniqlanadi (qizdirilgandasariq cho'kma hosil qiladi).

Ishning borishi. 2 ta probirkaga 5 tomchi lesitin suspenziyasi yoki tuxum sarig'i qo'shiladi. Birinchi probirkaga 2 tomchi pankreatin, ikkinchisida 2 tomchi H_2O (nazorat) qo'shiladi. Ikkala probirkani ham 20 daqiqa davomida $37^{\circ}C$ li suvli hammomda chayqatiladi. Inkubatsiyadan so'ng, har ikkala probirkaga 5 tomchi molibden reaktivi qo'shiladi, ular olovli olovda qizdiriladi va keyin oqar suvda sovutiladi. Sinov probirkalarining birida sariq cho'kma paydo bo'ladi.

22-MAVZU. FOSFOLIPIDLAR VA STEROIDLAR ALMASHINUVI

Qon zardobidagi fosfolipidlar miqdorini fosfor bo'yicha aniqlash

Usulning asoslanishi: Fosfolipidlar uchxlorsirka kislotasi yordamida qon oqsillari bilan birgalikda cho'ktiriladi. Olingan cho'kma minerallashtirilib, qoldig'ida anorganik fosfor aniqlanadi. Kolorimetrlashda aniqlangan fosfor miqdori asosida qon zardobidagi fosfolipid miqdori haqida fikr yuritiladi.

Ishni bajarilishi: 1 . Sentrifuga probirkasiga 3 ml distillangan suv va 0,2 ml qon zardobidan olib, 3 ml 10% li uchxlorsirka kislotasi (birinchi 1,5 ml tomchilab) qo'shiladi, chayqatilib, 1—2 daqiqaga qoldiriladi.

2 .1 -2 daqiqadan key in probirkadagi suyuqlik daqiqasiga 3000 aylanishda sentrifugalanadi, cho'kma ustki suyuqligi batamom olib tashlanib, cho'kmaga 1 ml 5% li xlorid kislotasi va bir tekis

qaynashi uchun 1 -2 ta shisha munchoq solinadi.

3. Probirkadagi aralashma 20-30 daqiqa davomida 180°C li qum hammomida rangsizlanguncha qizdiriladi. So'ngra sovutilib, tajriba namunasiga hajmi 7 ml bo'lguncha distillangan suv qo'shiladi. Nazorat namunasini tayyorlash uchun 0,8 ml 5% li xlorid kislotasi eritmasi olinib, hajmi suv bilan 7ml ga yetkaziladi.

4. Tekshirish jarayoni ishonchli bo'lishi uchun uchta probirkada 2 ml dan kaliy digidrofosfatning ishchi standart eritmasi va 0,8ml dan 5% li xlorid kislotasi eritmasi bo'lgan nazorat standarti tayyorlanadi hamda har birining hajmi 7ml ga yetguncha distillangan suv qo'shiladi.

5. Fosfomi aniqlash uchun har bir probirkaga (tajriba, nazorat va standart) 4% li ammoniy molibdat eritmasidan 1ml dan qo'shib aralashirilgach, 1ml dan aminonaftolsulfon kislotasidan solib, hajmi distillangan suv bilan 10ml ga yetkaziladi.

6. Aminonaftolsulfon kislotasi qo'shilganidan 20 daqiqa o'tkazib, paydo bo'lgan rang jadalligi FEK da 630—690 nm (qizil svetofiltr) to'lqin uzunligida qalinligi 10mm li kyuvetada o'lchanadi.

100 ml zardobdagi lipidli fosfor mg% da quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi: $X = E_{op} * 0,02 * 100 / st * 0,2 = E_{op} * 10 / Est$.

Bunda:

X - mg% lipidli fosfor;

E_{op} - tajriba namunasining optik zichligi; Est— standart namunasining optik zichligi; 0,02 - 2 ml standartdagi fosfor miqdori, mg; 0,2 - tajribaga olingan zardob miqdori, ml.

Lipidli fosfor fosfolipid molekulasi 4% (1/25 qismi)ni tashkil etgani uchun aniqlangan lipidli fosfor miqdorini 25 ga ko'paytirib fosfolipidlarning umumiy miqdori topiladi. Katta yoshdagi kishilarda lipidli fosfoming normadagi miqdori 6,1 dan 14,5 mg% gacha yoki 1,97—4,68 mmol/l (qayta hisoblash koeffitsiyenti- 0,323) bo'ladi.

23- MAVZU. UMUMIY XOLESTERINNI ANIQLASH

Salkovskiy bo'yicha xolesteringa sifat reaksiya

Usulning asoslanishi: Xolesterin, degidratatsiya qiluvchi moddalar ta'sirida, o'ziga xos ranglarga ega bo'lgan to'yinmagan uglevodorodga aylanadi.

Ishning borishi. Quruq probirkaga xolesterining xloroform eritmasidan 1 ml solinadi, probirka devori bo'ylab konsentrlangan H_2SO_4 quyiladi va sekinlik bilan chayqatiladi. Aralashmalar ajralib ustki (xloroform) qavat qirmizi-qizil rangga, pastki (kislota) qavat yashil flurensiyali sariq-qizil rangga bo'yaladi.

Qon zardobi tarkibidagi umumiy xolesterinni

Ilk usuli bilan aniqlash

Usulning asosi. Xolesterin sirka anhidrid ishtirokida sirka va sulfat kislota (ishchi reaktiv 3:1 nisbatda) aralashmalari bilan rangli mahsulot hosil qiladi. Rang zichligi kolorimetrda o'lchanadi.

Ish tartibi. Quruq va toza probirkaga 2 ml ishchi reaktiv va 0,1 ml gemolizlangan qon zardobi solinadi. Qon zardobi devor bo'ylab solinishi kerak. Probirkadagi suyuqlik 10-12 marta chayqatiladi va $37^{\circ}C$ li termostatga 20 daqiqaga joylashtiriladi. Nazorat tajribasini tayyorlash uchun (bitta guruhdagi talabalar uchun 1-2 nazorat tajriba yetarli) quruq probirkaga 2 ml ishchi reaktiv solinadi. Qolgan ish tartibi yuqoridagidek. Eritmaning rang zichligi nazorat tajriba qarshisida, qizil nur filtr to'lqin uzunligidagi FEK da ko'riladi. Xolesterin miqdori o'lchov egri chizig'iga binoan aniqlanadi.

24-MAVZU. LIPIDLAR ALMASHINUVINING

BOSHQARILISHI VABUZILISHI

Keton tanachalariga sifat reaksiya

a) Nitroprussid (Legal) reaksiyasi

Usulning asosi. Ishqoriy muhitda atsetosirka kislota va atseton

nitroprussid natriy ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)ning nitrozo guruhi bilan reaksiyaga kirishib, qizil- qo'ng'ir rangli to'rt valentli kompleksli anionini hosil qiladi. Nitroprussid bilan ishqoriy muhitda xuddi shunday reaksiyaga siydikning normadagi tarkibiy qismi bo'lgan kreatinin ham kirishadi.

Atseton tanachalari hosil qilgan rangni kreatinidan olingan rangdan ajratish uchun sirka kislotasi qo'shiladi. Kislotali muhitda kreatininli kompleks parchalanadi va qizil-qo'ng'ir rang sariq rangga o'tadi. Aksincha, ketonli komplekslarni sirka kislotasi bilan nordon muhitga o'tkazilganda vodorod ionlari birikib, qizil-olcharangli yangi birikmalar hosil bo'ladi.

Ishni bajarilishi:

A.1. Probirkaga tarkibida atseton tanachalari saqlagan siydikdan 10 tomchi quyib, 1 -2 tomchi yangi tayyorlangan nitroprussid natriy va 3—4 tomchi 10% li o'yuvchi natriy eritmalaridan tomizilganda qo'ng'ir-qizil rang paydo bo'ladi.

2. Probirkadagi konsentrlangan sirka kislotasi bilan nordonlashtirilgandasuyuqlik qizil-olcha rangga o'tadi.

3. Taqqoslash uchun reaksiya odatdagi siydik bilan ham takrorlanadi.

B. Atsetosirka kislotasiga temir xlorid (Gerxard) reaksiyasi.

Usulning asosi. Atsetosirka kislotasining temir xloridi bilan o'zaro reaksiyagakirishishida temirni atsetosirka kislotasining enol shakli bilan qizil-pushti rangli *Ishning bajarilishi:* 1. Probirkaga 20 tomchi siydik solib, 10% li temir xlorideritmasidan tomchilatib temir fosfatning FePO_4 shaklidagi cho'kmasi cho'kishmito'xtagunicha qo'shiladi.

2. Cho'kma hosil bo'lishi to'xtagandan so'ng yana suyuslik rangi qizil-pushti rangga kirguncha temir xlorid eritmasidan tomchilab qo'shiladi. Vaqt o'tishi bilan rang asta-sekin yo'qola boshlaydi, qaynatganda esa atsetosirka kislotasini dekarboksillanishi oqibatida rang tezlikda yo'qoladi.

3. Xuddi shu kabi rangni ba'zi dori moddalari (salisil kislotasi,

antipirin) qabul qilinganda siydikda atsetosirka kislotasi yo'qligida ham uchraydi. Bunda vaqt o'tishi bilan yoki 2 daqiqa davomida qaynatilganda ham rang yo'qolmaydi.

Siydikdagi atseton tanachalarini indikator qog'oz yordamida aniqlash

Ishni bajarilishi: 1. Tegishli reaktiv shimdirilgan indikator qog'ozining bir uchi tekshirilayotgan siydikka tushiriladi, so'ngra chiqarib olib, oq plastinkalarga qo'yiladi.

2. Bir daqiqadan so'ng qog'ozdagi bo'yoq rangini rangli standart shkala bilan solishtiriladi.

3. Rangning jadalligi atseton tanachalarining miqdoriga bog'liq.

Olingan rangning shkala rangi bilan taqqoslanishi yarim miqdoriy aniqlash hisoblanadi. Siydikda atseton tanachalari bo'lmaganda qog'oz rangi o'zgarmaydi yoki sariq tus ko'rinadi.

25-MAVZU. OQSILLAR ALMASHINUVI, OQSILLARNING XAZMLANISHI VA SO'RILISHI

Organizmدا 30g erkin aminokislota bo'lib, qon tarkibida uning miqdori 35-65 mg/dl ni tashkil qiladi. Aminokislotalarning asosiy qismi oqsillar tarkibiga kiradi. Katta kishilar organizmida 15kg oqsil bo'ladi. 400g gacha oqsil bir sutkada parchalanib, qayta sintezlanadi. Oqsil almashinuvi azot tengligi bilan o'lchanadi, ya'ni ozuqa oqsillari bilan tushgan azot va organizmdan chiqarilgan azotning farqi topiladi. O'suvchi organizmدا homiladorlik davrida, surunkali og'ir kasallikdan tuzalish davrida chiqarilayotgan azot miqdori organizmga tushayotgan azotdan kamroq bo'ladi. Bunday holat musbat azot balansi deyiladi. Aksincha, uzoq muddat surunkali kasallik bilan kasallanganda, och qolganda, qarilikda, o'sma kasalliklarida organizmdan chiqarilayotgan azot miqdori organizmga tushayotgan azot miqdoridan ko'proq bo'ladi. Bu manfiy azot balansi deyiladi. O'rta yoshdagi sog'lom odamlarda chiqarilayotgan va organizmga tushayotgan azot miqdori teng bo'ladi. Bunday holat azot

tengligi (azot muvozanati) deyiladi.

Me'da shirasi kislotaliligini aniqlash

Katta yoshdagi odam bir sutkada 1,5 l gacha me'da shirasi ajratadi. Me'da shirasi rangsiz kuchli kislotalilikka ega bo'ladi, uning tarkibi quyidagicha:

1. Solishtirma og'irligi	1,006-1,009
2. pH i	0,92-1,58
H ₂ O	99,5%
Quruq qoldiq	0,5-0,6%
5. Organik moddalar	0,4-0,5%
Anorganik moddalar	0,1%
Xlorid kislota:	
a) umumiy miqdori	0,45-0,6%
b) erkin xlorid kislota	0,4-0,5%
8. Xloridlar	0,5-0,6%

Me'da shirasi tarkibida pepsin, gastriksin, renin kabi fermentlar, gastrin gormoni, Kasl omili (vitamin B₁₂ ning so'rilishini osonlashtiradi), glikoproteinlar - mutsinlar va kislotali muhit yaratuvchi fosfatlar va boshqa moddalar uchraydi. Me'da shirasi tarkibidagi xlorid kislota miqdori keskin kamayishi natijasida sut kislota paydo bo'ladi. Ayrim kasallik holatlarda me'da shirasi tarkibida qon va o't kislotalar, o't pigmentlari paydo bo'ladi.

Me'da shirasi kislotaliklarini aniqlash

Me'da shirasi tarkibida 3 xil kislotalilik tafovut qilinadi. Hech qaysi birikma bilan bog'lanmagan vodorod xlorid kislota (erkin HCl); oqsil bilan bog'langan (bogiangan HCl); bog'langan va umumiy HCl ning yig'indisi hamda me'da shirasidagi kislotali muhityarataoladigan boshqa kislotali moddalarning yig'indisi (umumiy kislotalilik). Me'da shirasining ushbu kislotaliliklari indikator ishtirokida

natriy gidroksidning 0,1 mol/1 eritmasi bilan titrlash yo'li orqali aniqlanishi mumkin.

Umumiy kislotalilik fenoltalein indikatorini ishtirokida (pH ning o'tish chegarasi 8.2-10) 1000 ml me'da shirasini titrlash uchun (HCl va boshqa kislotalik xususiyatiga ega bo'lgan moddalarni neytrallash uchun) sarflangan 0,1 mol/1 natriy gidroksid miqdori bilan o'lchanadi. Umumiy kislotalilikning o'rtacha miqdori 40-60 mol/1 ga teng.

Erkin xlorid kislota dimetilaminoazobenzol indikatorini ishtirokida (pH i 1,0-3,0) 1000 ml me'da shirasini neytrallash uchun sarflangan 0,1 mol/1 natriy gidroksid miqdori bilan o'lchanadi. Uning o'rtacha miqdori 20-40 mol/1 ga teng.

Bog'langan xlorid kislota yuqoridagidek alizaringidrosulfonat natriy indikatorini ishtirokida (pH i 4,3-6,3) yoki fenoltalein va dimetilaminoazobenzol indikatorini yordamida aniqlangan umumiy kislotalilikni erkin kislotalilikdan ayirish yo'li bilan topiladi uning o'rtacha miqdori 10-20 mol/1.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Uchta kolbaga 5 ml me'da shirasi solinadi. Ularning birinchisiga 1-2 tomchi fenoltalein, ikkinchisiga 1-2 tomchi dimetilaminoazobenzol, uchinchisiga 1-2 tomchi alizarin qizil indikatorini solib aralashtiriladi. So'ngra har qaysi kolba alohida 0,1 mol/1 natriy gidroksid eritmasi bilan titrlanadi. Titrlash jarayonida suyuqliklarning rangi o'zgaradi. Kolbalarning tagiga oq qog'oz qo'yiladi. Titrlash jarayonida juda ehtiyot bo'lish kerak. Titrlash tugagach, kislotalilik miqdori hisoblanadi.

2. Barcha kislotalilikni bitta kolbada aniqlash.

Kolbaga 5 ml me'da shirasi, 1-2 tomchi dimetilaminoazobenzol va 1-2 tomchi fenoltalein tomiziladi. Kislotali sharoitda fenoltalein rangsiz, dimetilaminoazobenzol esa qizil rangga bo'yaladi. Titrlash juda ohistalik bilan o'tkaziladi. Buretkaga solingan natriy gidroksidning titrlash uchun sarflangan miqdori ma'lum belgisidan boshlab hisobga olinadi. Masalan, me'da shirasi qizil rangining

sarg'ish-qizg'ish tusga o'tishi uchun natriy gidroksid eritmasidan 1.5 ml sarflanadi. Titrlash och sariq rang hosil bo'lguncha davom ettiriladi. Me'da shirasi och sariq rangga kirishi uchun natriy gidroksidning sarflangan miqdori 2,0 ml ni tashkil qiladi. Bu ikkinchi belgi. Och sariq rangni och pushti rangga o'tguncha titrlash uchun 2,5 ml natriy gidroksid sarflanadi. Me'da shirasining qizil rangdan sariq-qizg'ish (sariq rang) rangga o'tishida dimetilaminoazobenzol indikatorining pH i 1-3 gacha o'zgarganligi ma'lum bo'ldi. Demak, erkin xlorid kislota to'liq neytrallanadi. Ikkinchi (sariq-qizg'ish rangning och sariq rangga o'tishi) belgiumurmy va bog'langan xlorid kislDtani topish uchun islatiladi. Oxirgi och pushti rangning hosil bo'lishi (uchinchi belgi) umumiy kisiotalilik ko'rsatkichidir.

Hisoblash uchun misol: 100 ml me'da shirasi tarkibidagi kislotam neytrallash uchun sarflangan natriy gidroksid miqdori quyidagicha:

Birinchi belgigacha sarflangan natriy gidroksid miqdori 1,5 ml. 20-30 erkin xlorid kislota (mol/1). 2. Umumiy kisiotalilik. Uchinchi belgigacha sarflangan natriy gidroksid miqdori $2,5 \cdot 20 = 50$ titrl. birl. (mol/1). 3. Ikkinchi va uchinchi belgilar uchun sarflangan natriy gidroksid yig'indisining o'rtacha arifmetik qiymati umumiy xlorid kislota ko'rsatkichi hisoblanadi. (o'rtacha arifmetik qiymat = $2.25 \cdot 20 = 45$ (mol/1).

Umumiy xlorid kislota ko'rsatkichidan erkin xlorid kislota ko'rsatkichini ayirsak bog'langan xlorid kislota miqdorini topgan bo'lamiz. 50-30

Katta yoshdagi sog'lom odamlar me'da shirasining kislotaliligi o'rtacha quyidagicha: Erkin HCl -20-40 titr birligiga; bog'langan HCl - 10 - 20 titr birligiga; umumiy xlorid kislota 40 -60 titr birligiga (mol/1) teng. Erkin xlorid kislota miqdorining ortib ketishi gipotsid gastrit, me'da va 12 barmoq ichak yaralarida kuzatiladi. To'qimalar yallig'langanda qon yoki o't pigmentlari me'da shirasiga o'tishi mumkin. Kislota miqdorining odatdagidan kamayishi gipotsid gastritda kuzatiladi. Kislotalilikning yo'qolib ketishi anotsid gastritda

kuzatiladi. Bu holda mikroorganizmlar ko'payib, bijg'ish alomati yuzaga keladi va me'da shirasi tarkibida sut kislota paydo bo ladi.

Me'da shirasi patologik komponentlarini aniqlash Me'da shirasi tarkibidagi sut kislotaga o'tkaziladigan sifat reaksiya (Uffelman reaksiyasi)

Ushbu reaksiya uch valentli temir tuzlarining sut kisiota bilan hosil qiladigan iemir (III) laktatning sariq- yashil tusga kirishiga asoslangan. Bu birikma xlorid kisiota ta'sirida tezda parchalanadi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Ikkita probirkaga fenolning 2% li eritmasidan 20 tomchi solib, ustiga temir (III) xloridning 1% li eritmasi binafsha rang hosil bo'lguncha tomiziladi.

Probirkadagi suyuqliklaming biriga kislotaliligi kamaygan, sut kisiota tutuvchi me'da shirasidan 1-3 tomchi solinadi, ikkinchi probirkaga esa kislotaliligi o'rtacha me'da shirasidan 1-3 tomchi solinadi.

Birinchi probirkadagi binafsha rangli suyuqlik saria-yashil rangga kiradi. Ikkinchi probirkadagi binafsha rang me'da shirasi tarkibidagi xlorid kisiota ta'sirida rangsizlanadi.

Me'da shirasi tarkibidagi qonni benzidin reaksiyasi bilan aniqlash

Qon gemoglobini vodorod peroksidni suv va kislorodga parchalash xossasiga ega. Hosil bo'lgan kislorod esa benzidinni oksidlaydi va uning rangini o'zgartiradi.

Bajariladigan ish tartibi. Ikkita probirkaga 1% li vodorod peroksid eritmasidan 5 tomchi va 0,2% li benzidinning spirtidagi 0,2% ii eritmasidan 4-5 tomchi solib, ularning biriga qon tutuvchi, ikkinchisiga qonsiz me'da shirasidan 20 tomchi tomiziladi va aralashtrinladi. Qon tutuvchi me'da shirasi solingan probirkadagi suyuqlik benzidinni oksidlagani uchun ko'karadi. Ikkinchisida qon bo'lmagani uchun rang o'zgarishi kuzatilmaydi.

26-MAVZU. AMINOKISLOTALAR ALMASHINUVINING UMUMIYYO'LLARI

Aminokislotalarning transaminlanishini o'rganish

Kimyoviy reaktivlar to'plami:

- 1) fosfat buferi 0,1 M (pH 7,4) eritmada;
- 2) 14,2 natriy gidrofosfat 1 l distillangan suvda eritiladi (0,1 M);
- 3) 13,6 g kaliy digidrofosfat 1 l distillangan suvda eritiladi (0,1 M);
- 4) bufer eritma tayyorlash uchun 840 ml 0,1M natriy gidrofosfat va 160 ml 0,1M kaliy digidrofosfat eritmaları aralastiriladi.

Bajariladigan ish tartibi. 2 ta probirka olinadi va 4 chi reaktivdan 0,25 ml dan solinadi. 1-chi probirkaga 0,05 ml qon zardobi, 2-chi probirkaga 0,05 ml fiziologik eritma solinadi va 60 daqiqa davomida 37°C da inkubatsiya qilinadi.

Probirkalarga 0,25 ml dan reaktiv 2 solinadi va chayqatiladi.

Xona haroratida 15 daqiqa probirkalar qoldiriladi va ustiga NaOH 0,25 ml dan solinadi.

10 daqiqa probirkalar xona haroratida qoldiriladi.

1-chi probirkadagi suyuqliq 2 chi probirkaga nisbatan 530 nm to'liqin uzunligida FEK da o'lchanadi (2 chi probirkadagi aralashma nazorat bo'lib hisoblanadi).

27-MAVZU. QONDA QOLDIQ AZOTNI ANIQLASH

Qonda azotni qoldiq holatiga oqsilsiz azot deb ataladi. U qon oqsillarini chuktirishi natijasida eritmada organik va noorganik birikmalarni N qoladi. Normada qoldiq azot 0,2-0,4g/l ni tashkil qiladi. Shundan 50% mochevina, 25% aminokislotalar azotiga, 7,5% kreatinin va kreatinga, 0,5% - ammoniyli tuzlarga, 13% qoldiq azot qolgan azotli moddalarga to'g'ri keladi va ularning qondagimiqdori

o'zgaruvchan bo'ladi. Qoldiq azotni miqdorining oshishi organizmdagi azotni metabolizmi maxsulotlari orasidagi hosil bo'lishi va sarflanishi buzilishi bilan belgilanadi. Qonda qoldiq azotning konsentratsiyasi 0,4-0,5 g/l dan oshib ketsa azotemiya deb ataladi. Bu holat azot maxsulotlari chiqarilishining ushlanib qolish yoki ularni hosil bo'lishining kuchayishi yurak va jigar kasalliklarida kuzatiladi.

Shuning uchun qoldik azotni aniqlash muxim klinik test hisoblanadi. Qondagi qoldiq azotni aniqlashda qon zardobidagi oqsillarning chukishi tufayli olingan oqsilsiz filtratni sulfat kislotasi bilan kuydiriladi. Bunda organik birikmalardagi azot ammoniy sulfatga aylanadi. Hosil bo'lgan ammoniy tuzi Nessler reaktivi bilan ta'sirlanganda sariq tusga kiradi. Uning intensivligini ma'lum miqdordagi azot saqlovchi standart eritmani rangi bilan solishtiriladi.

Ish tartibi. 1. Oqsilni cho'ktirish uchun probirkaga 2,8ml reaktiv solinadi. Qon zardobi uchun mikropipetka bilan 0,2ml reaktiv olinadi va probirkaga solinadi. Probirkadagi maxsulotlarni aralashtiriladi. Probirkadagi oqsillarni cho'ktirishi uchun 7-10 minutga qoldiriladi va keyinchalik quruq probirkaga filtrlanadi.

2. 0,5ml filtratni pipetka yordamida temperaturaga chidamli probirkaga olib solinadi va sulfat kislotasining konsentrlangan eritmasidan 5 tomchi olib solinadi. Kontrol probirkaga filtrat urniga 0,5ml distillangan suv, 5tomchi sulfat kislotasi solinadi.

3. Organik moddalarni minerallash uchun probirkani suv hammomigajoylashtiriladi.

4. Probirkani qizdirganda oldin suv bug'lanadi, keyinchalik oq og'ir parlar paydo bo'lib tekshiriluvchi eritma rangi to'qlashadi. Probirkani hammomdan olinadi, sovutiladi va har biriga 2 tomchidan H_2O_2 solinadi. Keyin yana hammomga joylashtirilib 1-2 min davomida isitiladi. Eritma rangsiz bo'lishi kerak.

5. Sovutilgandan so'ng probirkaga 10ml distillangan suv solinib NaOH ning 10% li bilan kuchsiz ishqoriy reaksiyagacha neytrallanadi. Lakmus qizil rangini ko'kga o'zgartiradi. Ishqorning

ortiqchaligi eritmaning rangini o'zgartiradi.

6. Ikkala probirkaga 0,5ml dan Nessler reaktivi solinadi. Probirkadagi maxsulotlar azot miqdoriga bog'liq holda turli intensivlikka ega bo'lib sariq rangga bo'yaladi.

7. Tekshiruvchi probirkaning optik zichligini ko'k svetofiltrga qarshi FEK da o'lchanadi. Qoldiq azotni miqdorini egri chiziq yordamida aniqlanadi.

Siydikda siydikchil miqdorini aniqlash

Usulning asoslanishi. Usul sariq rangli birikma hosil qilish uchun p- dimetilaminobenzaldegid bilan kislotali muhitda reaksiyaga kirishadigan aminokislotalarni o'z ichiga olgan karbamidning xususiyatiga asoslanadi. Rangning to'qligi karbamid konsentratsiyasiga to'g'ridan-to'g'ri mutanosib bo'lib, kolorimetrik usul bilan aniqlanadi.

Bajariladigan ish tartibi. Tadqiqot talabalar siydikining bir nechta namunalari bilan olib boriladi. Ikkita probirka oling, 1-chi tarkibga 0,2 ml siydik, 2-ga 0,2 ml siydikchil karbamid eritmasini qo'shing va ikkala naychaga 1,2 ml qo'shing paradimetilaminobenzaldegid eritmasidan aralashtiring. 15 daqiqadan so'ng namunalarni suvga qarshi ko'k filtri bilan 3 mm kyuvetlarda fotometrlanadi.

Hisoblash: $X = ac \cdot 1,5 / b$

Bunda X - siydikchildagi siydikchil konsentratsiyasi (g/sutka);
a - bu standart siydikchil eritmasining konsentratsiyasi (2,5%, ya'ni 2,5 g/100 ml); b va c- eksperimental va standart namunalarning yo'q bo'lib ketishi;

1.5 - kunlik siydik miqdoriga konversiya (1,5l).

SI birliklariga o'tkazish koeffitsienti (mmol/sutka) 16,65 ni tashkil qiladi.

Tadqiqot natijalarini baholash uchun kuniga 20-35g (333-583 mmol) siydikchil siydik bilan chiqariladi.

29-MAVZU. BIOGEN AMINLARNING VAZIFALARI. AMMIKNI HOSIL BO'LISHI VA ZARARSIZLANTIRISH YO'LLARI

Adrenalinga xos reaksiyalar, yod va temir xlorid bilan reaksiyasi

Adrenalinni yod bilan reaksiyasi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 3 ml adrenalinning suvdagi eritmasidan solinib, ustiga 3-4 tomchi yodning 0,1 n eritmasidan tomiziladi. Probirkadagi aralashma yaxshilab chayqatilib spirt lampasi alangasi ustida asta-sekin qizdiriladi.

Bu vaqtda probirkadagi aralashma oldin pushti keyin qizg'ish rangga bo'yaladi. Bu jarayon adrenalinni yod ta'sirida oksidlanganligidan dalolat beradi.

Adrenalinni temir xlorid bilan reaksiyasi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 2-3 ml adrenalinning suvdagi eritmasidan vauning ustiga 1 ml temir xloridning 3% li eritmasidan solinadi. Aralashma biroz chayqatiladi, keyin probirkadagi aralashma katexinlarga xos bo'lgan zangori rangga bo'yaladi. Uning ustiga biroz ishqor solinsa probirkadagi zangori rangli eritma qizg'ish rangga o'ta boshlaydi. Bu jarayonlar aralashma tarkibida adrenalin bor ekanligidan dalolat beradi.

30-MAVZU. ALOHIDA AMINOKISLOTALAR ALMASHINUVI

Aminokislotalarning uglerod skeletlarini amfibolik mediatorlarga aylanishi 1940 yillarda maxsus ovkatlanishlar orkali aniqlangan. Bunda aminokislotalarning uglerod skeleti uglevodlarni, yog'larni, ham uglevod, ham yog'larni hosil qilishi mumkin

Aminokislotalarning uglerod skeletlari aminoguruhi ajralgandan so'ng quyidagi moddalarga aylanishi va Krebs siklida yonishi mumkin. Glitsin, alanin, leysin, sistein, serin, treonin, lizin, triptofan - atsetil-KoA; fenilalanin va tirozin - atsetil-KoA va fumarat; izoleysin - atsetil-KoA va suksinil-KoA; arginin, gistidin, glutamin,

glutamat, prolin - alfa-ketoglutarat; asparagin va aspartat oksaloatsetat hosil qilishi mumkin. Ularning CO_2 va H_2O jadal parchalanishi natijasida ko'p miqdorda energiya ajralib chiqadi. Aminokislotalarni jadal atsetil-KoA ga jigarda parchalanishi keton tanachalarini hosil bo'lishiga olib keladi.

Transmetillanish reaksiyalari.

Metionin oltingugurt tutuvchi almashinib bo'lmaydigan aminokislotalarga kiradi. Undan sistein va sistin hosil bo'ladi. Bu 3 oltingugurt tutuvchi aminokislotalar oqsillar tarkibiga kiradi va ularning gidrolizlanishida erkin holda ajraladi. Shu bilan birga metionin modda almashinuvi jarayonlarida katta ahamiyatga egadir. Bu uning tarkibidagi labil metil guruhining bo'lishidir. Bu metil guruhi boshqa moddalarga transmetillanish yo'li bilan o'tib turishi mumkin. Bu jarayonda metioninning uzi emas balki uning faol hosilasi bo'lib

S-adenozilmetionin ishtirok etadi.

Transmetillanish - metil ($-\text{CH}_3$) guruhining S-adenozilmetionindan tegishli akseptorlarga o'tkazilishidir. S-adenozilmetionin esa metioninning aktiv shakli bo'lib, S-adenozilmetionin - metil guruhining donoridir. Transmetillanish reaksiyalarini maxsus metiltransferazalar katalizlaydi. S-adenozilmetionindagi metil guruhi quyidagi jarayonlarda foydalanadi.

- 1) Kreatin hosil bo'lishida
- 2) Fosfatidilxolin hosil bo'lishida
- 3) N-metilnikotinamid hosil bo'lishida
- 4) Adrenalin hosil bo'lishida.
- 5) Metillangan asoslar hosil bo'lishida

S-adenozilmetionin bulardan tashqari qator moddalar sintezida ham ishtirok etadi.

Bir uglerodli qoldiqlarning tashilishi. Koferment va boshqarilishi Organizmda bir uglerodli qoldiqlarning birlamchi

manbai bo'lib serinning betta-uglerod atomi, glitsinning alfa-uglerod atomi, metioninning, xolinning $-CH_3$ guruhi, triptofan indol halkasining 2C atomi, gistidin imidazol halqasining 2C atomi hisoblanadi. Bir uglerodli qoldiqlar quyidagilardir.

Misol tariqasida tetragidrofolat kislotasi (TGFK) kofaktori ishtirokida serindan glitsin sintezi va aksincha glitsindan serin sintezida, glitsinning katabolizmi natijasida bir uglerodli qoldiq metilen hosil bo'lishini tarkibida va metionin almashinuvini keltiramiz. Folat kislotaning koferment shakllari uning tetragidrofolat kislota (H_4 -folat) ga qaytarilgandan keyin hosil bo'ladi.

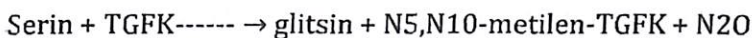
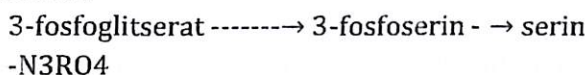
Metionin almashinuvida ham bir uglerodli qoldiq $-CH_3$ metil muhim rol o'ynaydi. Shuni ta'kidlash kerakki, TGFKning barcha koferment shakllari o'zaro bir biriga utadi. Bir uglerodli qoldiqlar xilma-xil sintetik reaksiyalarda masalan, formil-metionil-tRNK hosil bo'lishida, purinlar, pirimidinlar, ayrim aminokislotalar (serin, glitsin, metionin) sintezida foydalanadi.

Ba'zi aminokislotalarning almashinuvi.

Metionin, serin va glitsin almashinuvi. Metionin almashinib bulmaydigan aminokislotaga kiradi. Uning aktiv metaboliti S-adenozilmetionin xisoblanadi. Bu moddadan metil guruxini ajralib chikishi S-adenozilgomotsisteinni xosil kiladi. S- C boglarini gidrolizlaninishi L-gomotsistein va adeninga parchalaydi. Gomotsistein serin bilan birikishi sistationni, uni gidrolizmanishidan esa gomoserin va sistein xosil buladi. Gomoserin gomoserindezaminaza fermenti ta'sirida alfa ketobutiratni, sung propionil-KoAni xosil kiladi.

Sisteindan koferment A ning tioetanolamin fragmenti va taurin xosil buladi. Serin bilan glitsin uzgarishlarida kofaktori folat kislota unumlaridan iborat bulgan fermentlar asosiy rolni uynaydi. Serin alishtirsa buladigan aminokislotadir, uning uglerodli kismi glyukozadan xosil buladi. Glyukoza metaboliti 3-fosfoglitserat degidrillanib, alfa-ketokislotaga aylanadi (3-fosfopiruvat). Sungra

transaminlanish va gidrolitik yul bilan fosfat ajralib chikish reaksiyalari serin sintezining poyoniga yetkazadi, undan esa glitsin sintezlanadi:



Bu aminokislotalarni parchalanishi piruvat, CO_2 va N^5N^{10} -metiltetragidrofolat hosil bo'lishiga olib keladi. Bu reaksiyalar glitsinsintaza ferment kompleksi va serin-gidroksimetiltransferaza fermentlari ta'sirida boradi.

Glitsinning alfa-uglerod va azot atomlari porfirin halkasini sintezida, glitsinni tuliq uzi, o't kislotalari va benzoat kislotalari bilan kon'yugatlar v kreatin sintezida, serin esa - sfingozin, purin va pirimidin asoslari, xolin sintezida ishlatiladi.

Fenilalanin va tirozin almashinuvi. Xayvon tukimalari fenilalaninning benzol xalqasini sintezlay olmasligi tufayli u almashtirib bo'lmaydigan aminokislotalarga kiradi. Tirozin esa ovqat bilan fenilalanin yetarli darajada iste'mol qilinsa, to'liq almashtirib bo'ladigan aminokislotalarga kiradi. Chunki, fenilalaninning asosiy almashinuv yo'li uning tirozingacha gidrolizlanishidir. Ushbu reaksiyani maxsus ferment fenilalanin-4-monooksigenaza (fenilalaningidroksilaza) katalizlaydi. So'ngra tirozindan esa, biologik muxim moddalar: katexolaminlar (adrenalin, noradrenalin), qalqonsimon bez gormonlari va melanin sintezlanadi.

Fenilketonuriya (fenilpiruvatli oligofreniya) ogir irsiy kasallik bo'lib, fenilalaninni tirozinga aylantiruvchi ferment - fenilalaningidroksilaza yetishmasligitufayli vujudga keladi. Kasallik chaqaloqning birinchi kunlaridayoq namoyon bo'ladi. Bemor tuqimalari, qoni va siydigida fenilalanin va uning unumlari oshib ketadi; qonda fenilalanin 80 mg/dl ga yetadi (normada 1-4 mg/dl dir). Bunday sharoitda fenilalaninning kupgina qismi fenilpiruvatga va fenillaktatga aylanadi. Bemor bolalar aqliy va jismoniy rivojlanishidan orqada qoladi, holsizlik, titrash kabi alomatlar ruy

beradi. Kasalga fenilalanil kam buladigan ovqat berib borilsa, bemorlar qonidagi va kasallik alomatlarining avj olib borishi sekinlashadi.

Alkaptonuriya. Aminokislotalar almashinuvining kam uchraydigan irsiy kasalligi bo'lib, gomogentizinat kislota oksidazasi yetishmasligi tufayli vujudga keladi. Tirozin almashinuvida paraoksifenilpiruvat gomogentizinat kislotaga aylanmaydi. Uning miqdori qon va siydikda oshib ketadi, oksidlanishi natijasida kora pigment alkaptokrom hosil bo'ladi. Oxronoz va artritlar ham kuzatiladi.

Albinizm. Tirozindan melanin pigmenti sintezini ta'minlovchi tirozinaza yetishmasligi tufayli vujudga keladigan irsiy kasallikdir. Ko'pincha terining kosmetik nuqsonlari, ko'zning shoh pardasida, sochlarda o'zgarishlar ro'y beradi. Shuningdek, quyosh nuriga sezgirlikning oshishi, ko'zning xiralanib qolishi kuzatiladi.

Parkinsonizm. Parkinsonizm kasalligi dofamin almashinuvining buzilishidan kelib chiqadigan asab kasalligidir. Dofamin esa dioksifenilalaninning (DOFA) DOFA-dekarboksilaza ta'sirida dekarboksillanishidan hosil bo'ladi. Ma'lumki, dofamin miya stvolidagi kulrang moddasi neyronlari sinapslarida mediator bo'lib xizmat qiladi. Parkinsonizmda DOFA-dekarboksilaza aktivligi pasayib ketadi natijada miyada dofamin kamayadi; DOFA dan esa, N-atsetil-dofamin hosil bo'ladi. Ushbu kasallikda muskullarning tarang tortib qattiq bo'lib turishi (rigidligi), harakatlar qiyinlashadi, titrash kuzatiladi. Bemorlar qoniga DOFA yuborish kasallikni bartaraf etadi: DOFA dofamindan farq qilib qondan miyaga oson o'tadi va dofaminga aylanadi.

Triptofan almashinuvi

Triptofan almashtirib bo'lmaydigan aminokislota bo'lib, bir qator muxim biologik aktiv moddalarning, xususan serotonin, nikotin kislotasi, ribonukleotid va NAD ning o'tmishdoshi hisoblanadi. Fiziologik sharoitda triptofanning 95% kinurenin yo'li bilan, 1% dan oz qismi esa - serotonin yo'li bilan oksidlanadi.

Xartnup kasalligi triptofan almashinuvining maxsus buzulishlari hosidir. Siydik bilan ko'p miqdorda indolilatsetat, indolilatsetilglutamin va indikan ajralishi, ammo, indoksilisulfat kislolaning normal miqdorda ajralishi tufayli, ehtimol, metabolik o'zgarish triptofan almashinuvining birinchi reaksiyasi bilan bog'liq bo'lib, asosan dekarboksillanish sodir bo'ladi. Terida pellagrasimon jaroxatlanish, psixik o'zgarishlar, atakenez hamda giperaminoatsiduriya kuzatiladi. Zamonaviy dalillarga kura, Xartnup kasalligidagi metabolik nuqson triptofanning ichakda so'rilishi hamda triptofan va uni almashinuv maxsulotlarini buyraklarda reabsorbsiyasining irsiy buzulishiga bog'liqdir.

Aminokislotalarga tirazinaza ta'sirini o'rganish

Po'stidan tozalangan (2,0-4,0g) kartoshka tuganaklari hovonchaga solinadi ustidan 10 ml dis.suv solib eziladi, filtrdan o'tkaziladi.

Olingan filtrat 1,0 ml dan 2ta probirkaga solinadi, biri 1-2 daq. qaynatiladisuvda sovutiladi.

Ikkala probirkaga tirozinning 0,1% eritmasidan 1,0ml solinadi va suyuqliklar aralashtirib 37-40°C termostatga joylashtiriladi

Vaqtı-vaqtı bilan probirkadagi eritmalar aralashtirilib turiladi.

Pirobirkadagi eritmalaridan biri tirozinaza ta'sirida qoraymaydi. Ushbu probirkadagi tirozin havo va tirozinaza ta'sirida melaninga o'xshash mahsulot hosilqiladi.

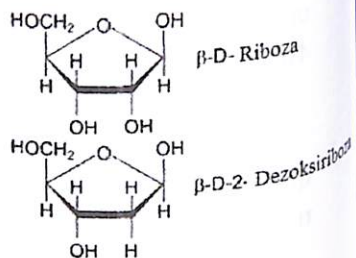
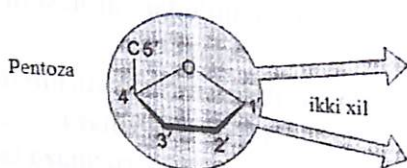
Nazorat probirkadagi tirozin o'zgarmaydi, chunki kuchsiz ferment unga ta'sir ko'rsatmaydi va eritma rangi qoraymaydi.

31-MAVZU. NUKLEIN KISLOTALAR ALMASHINUVI

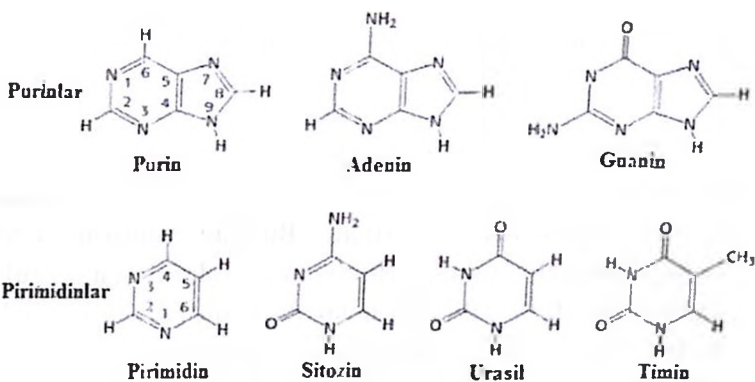
NK larning turlicha kattalik va ulchamda bo'lisi ularning tur spesifiklikda ham ahamiyatli. Masalan, SV40 hayvon virusining tarkibida $5,0 \times 10^3$ nukleotidlar va 5 gen mavjud; T4 bakteriofagida - $2,0 \times 10^5$ nukleotidlar va 200 genlar; *E.coli* - $4,6 \times 10^6$ nukleotidlar va

4600 genlar; odam gaploid hujayrasida - $2,8 \times 10^9$ nukleotidlar va 30000 - 40000 genlar mavjud. Shuni aytish joizki, inson spermatozoidlarida DNK miqdori 60%, somatik hujayralarida - 1-10% (*mushaklarda* - 0,2%), yadrodan tashqari DNK esa 1,3% ni tashkil qiladi. Hujayralarda RNK miqdori yuqori bo'lib DNK nisbatan 5-10 marotaba ko'pdir, oqsil sintezi jadal kechuvchi hujayralarda RNK/DNK nisbati 4-10 tashkil qilsa, oqsil sintezi o'rtacha kechuvchi hujayralarda - 0,3-2,5 ni tashkil qiladi. Eukariot hujayralarda RNK 11% yadroda, 15% - mitoxondriyalarda, 50% - ribosomalarda, 24% - sitoplazmada joylashgan.

Nuklein kislotalarni to'liq gidrolizlashda (xlorid kislotasida qizdirishda) gidrolizatda purin va pirimidin asoslar, uglevodlar (riboza va dezoksiriboza) va fosfat kislotaga qoldig'i borligi aniqlangan. DNK molekulasida uglevodlardan dezoksiriboza, RNK esa - riboza bo'ladi, shuning uchun ularning nomlanishi ham: dezoksiribonuklein (DNK) va ribonuklein (RNK) kislotalardir. DNK va RNK molekulasida uglevodlar (**riboza** va **dezoksiriboza**) β -D-ribofuranosida shaklida bo'ladi:



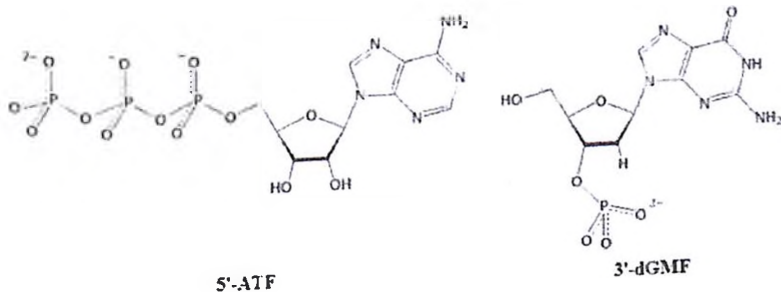
Purin va pirimidin asoslarini 2 aromatik geterosiklik halqalar - pirimidin vapurin tashkil etadi:



Purin azot asoslari 9-chi N bilan, pirimidin azot asoslari 1-chi N pentozalarning 1-chi C bilan β -N-glikozid bog' bilan birikmasi nukleozid deyiladi:



Nukleozidlar pentozalariga fosfat kislotalar qoldig'i birikmalariga nukleotidlar deyiladi:

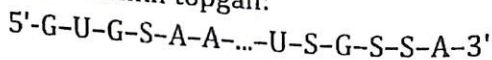


Nuklein kislotalarning birlamchi, ikkilamchi va uchlamchi qurilishlari.

Birlamchi qurilishi. Nuklein kislotalarning birlamchi qurilishi deb DNK va RNK polinukleotid zanjirida mononukleotidlarni ma'lum tartibda joylashishiga aytiladi. Bunday zanjirni 3',5'-fosfodiefir bog'lari mustahkamlaydi. Nuklein kislotalarning molekulyar massasi 2×10^4 dan $10^{10} - 10^{11}$ darajalarida yuqori bo'lishi sababli ularning birlamchi qurilishini aniqlash murakkabdir. Shunga qaramay barcha nuklein kislotalarda 3',5'-fosfodiefir bog'lari 4 xil nukleotidlari o'zaro bog'laydi.

Nukleotidlararo bog'lanishlarni hosil qilishda uglevodlarning 3'- va 5'- holatlaridagi gidroksil guruhlar qatnashadi.

Hozirgi kungacha bir necha yuz yoki mingdan ortiq nukleotidlar qoldiqlaridan tashkil topgan *E.coli*, viruslar RNK, barcha tRNK va ba'zi 5S rRNK, 16S rRNK birlamchi qurilishi aniqlangan. Quida RNK molekulasida tarkibidagi nukleotidlar ketma-ketligining sxematik ko'rinishi keltirilgan. Barcha hujayra RNK bitta polinukleotid zanjiridan tashkil topgan:



RNK molekulasining polinukleotid zanjirining birinchi uchida doimo erkin monofosfat efiri bo'lib, u 5'-uchi deb belgilanadi; uning qarama-qarshi ikkinchi uchida bunday fosfat qoldig'i bo'lmaydi. Bu uchida erkin 2'- yoki 3'-gidroksil guruhi tutuvchi nukleotid bo'ladi.

tRNK birlamchi qurilishidagi 2 o'ziga xos xususiyatiga to'xtalishimiz kerak: birinchisi - uning 5'-uchida asosan guanilat kislotaning (ba'zan sitidilak kislota)erkin fosfor kislota qoldig'ini tutadi; ikkinchisi - uning qarama-qarshi tomonida barcha tRNK doimo -SSA tripleti bo'ladi, uning adenilat kislotasida esa erkin 3'-OH-guruhi bo'ladi.

DNK molekulasining birlamchi qurilishi to'g'risidagi

ma'lumotni (asosan uning fragmentlari to'g'risidagi ma'lumotni) bilvosita usullar bilan aniqlash mumkin. Jumladan, DNK molekulasiidagi nukleotidlar zanjirining zichlik darajasi asosida (izotoplarda nukleotidlar soni va tuzilishi to'g'risida), yoki DNK reassisiatsiyalanish kinetikasi asosida (takrorlanuvchi nukleotidlar qismlarini aniqlash). DNK birlamchi qurilishi to'g'risida minor asoslarni tarqalish qonuniyati asosida ham gapirish mumkin.

Ikkilamchi qurilishi. DNK tarkibini o'rganishda to'rt xil nukleotid asoslarining joylashuvi ma'lum qonuniyatga buysunushini Ervin Chargaff va unung safdoshlari tomonidan 1940 yillarda o'rganilgan, va quyidagi qoidalar yaratilgan: 1. Har xil turlar DNKsida azot asajslari miqdori farqlanadi.

2. Bir turga kiruvchi organism turli tuqimalaridan ajratib olingan DNK tuzilishida azotli asoslar tarkibi bir xildir.

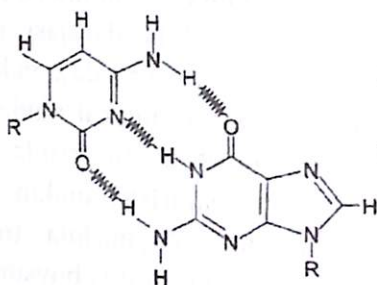
3. Ma'lum bir tur DNK tarkibi yoshga, ovqat rasioniga va tashqi muhitga bog'liq emas.

4. Har xil turlar DNKsida nukleotid tarkibining xususiyati shuki, adeninli nukleotidlar soni timidinli nukleotidlar soniga teng ($A=T$), guaninli nukleotidlar soni sitidinli nukleotidlar soniga teng ($G=S$), demak $A+G=T+S$, ya'ni purinli nukleotidlar soni pirimidinli nukleotidlar soniga teng.

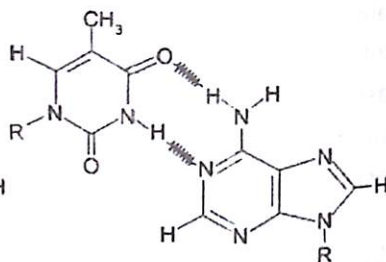
Dj. Uotson va F. Krik tomonidan o'tkazilgan tajribalarga hamda rentgenostruktur analiz ko'rsatkichlariga asoslanib 1953 yili ular DNK molekulasi u polinukleotid zanjirlardan iborat ekanligi aniqlangan (1-rasm). Bu zanjirlar o'zaro o'q atrofida o'ng tomonga aylanuvchi qo'sh spiralni hosil qiladi. Bu zanjirlar azot asoslari orasida hosil bo'luvchi vodorod bog'lar hisobiga mustahkam bo'ladi. DNK bispiral molekulasiidagi zanjirlar fazoda ma'lum bir tartibda joylashadi, ya'ni azot asoslari qo'sh spiral ichida, uglevod va fosfat qoldiqlari esa tashqarida qoladi.

DNK qo'sh zanjirida azotli asoslar orasidagi vodorod bog'lar quyidagicha tasvirlanishi mumkin:

Sitozin \vdots Guanin
(uchta vodorod bog')



Timin \vdots Adenin
(ikkita vodorod bog')



DNK molekulasidagi 2 zanjirlar qarama-qarshi yo'nalgan bo'lib,

1-chi zanjirdagi nukleotidlar orasidagi bog'lanishlar 5'→3' yo'nalishida bo'lsa, 2-chi zanjirda 3'→5' yo'nalishida bo'ladi. DNK molekulasidagi polinukleotid zanjirlarning bunday yo'nalishlari replikatsiya va transkripsiya jarayonlarida muhim biologik ahamiyatga ega.

Zanjirlardagi barcha azotli asoslar qo'shspirallning ichki qavatida, pentozofir qismlari esa - tashqi qavatda bo'ladi. Bu polinukleotid zanjirlar bir- biriga nisbatan vodorod bog'lari hisobiga purin va pirimidin nukleotidlarining komplementarligi qonuniyati asosida ushlanib turadi: A va T orasida (2 bog'), G va S orasida (3 bog'). DNK molekulasining bitta zanjiridagi nukleotidlar ketma- ketligi ikkinchi zanjirdagiga to'liq komplementar. Qo'shspirall DNK molekulasining azot asoslari orasida gidrofob bog'lanishlar hosil bo'lib, ular ham qo'shspiralni mustahkamlaydi. Bunday qurilmada azot asoslarini suv bilan kontaktini yo'qotadi, ammo bunday to'plamlar absolyut vertikal bo'lishi mumkin emas. Azot asoslari juftliklari bir-biriga nisbatan qisman siljigan. Shuning uchun hosil bo'lgan qurilmada 2 buramalar: katta - kengligi 2.2 nm va kichik - kengligi

1.2 nm hosil qiladi. Kichik va katta buramalardagi azot asoslar xromatin hosil qilishda qatnashuvchi spetsifik oqsillar bilan

bog'lanadi. DNK spiralining har bir buramasi 10 nukleotid qoldig'idan tashkil topgan bo'lib, uning o'lchami 3,4 nm gateng keladi, ya'ni har bir nukleotidning ulcami 0,34 nmdir.

DNK miqdorini kolorimetrik usulda aniqlash

Ishning borishi: 2 ta probirka olinadi, 1chi probirkaga 1 ml DNK ning suvli eritmasi va 2 ml difenilamin reaktivi solinadi. 2chi probirkaga 1 ml dist suv va 2 ml difenilamin reaktivi solinadi. Suv hammomiga har ikki probirka solinadi. Probirkalar qaynatilgan suv hammomida 10 minut saqlanadi. Probirkalar sovutiladi va 1 chi probirkadan kyuvetaga olinib FEKda qizil filtrda optik zichlik o'lchanadi. 2 chi probirkadan ham optik zichlik o'lchanadi

Tayyor grafikning ordinata o'qiga DNK ning har ikki konsentratsiyasi optik zichligi, absissa o'qiga DNK konsentratsiyasi joylashtiriladi

1 chi probirkadagi eritma optik zichligi ordinata o'qidagn topiladi. Shu nuqtadan grafik bilan kesishguncha to'g'ri chiziq chiziladi. Kesishgan nuqtadan absissa o'qiga perpendikulyar tushiriladi va bu nuqta olingan DNK miqdori bo'ladi.

32-MAVZU. MODDALAR ALMASHINUVI VA FUNKSIYALARINI GORMONLAR ORQALI BOSHQARILISHI.

Gormonlar - bu ichki sekresiya ya'ni endokrin bezlari tomonidan ishlab chiqarilib qonga quyiladigan va qon orqali organizmning turli xil organ va to'qimalariga tarqalib ularga qo'zg'atuvchi ta'sir ko'rsatadigan va organizmning hayotchanligi uchun zarur bo'lgan biologik aktiv moddalardir.

Endokrin bezlari qon tomirlari bilan juda zich ta'minlangandir. Shuning uchun ham ular o'zlarini ishlab chiqargan shiralarini tabiiy holatda shu qon tomirlariga quyishga moslashgandirlar.

Gormonlar haqidagi ma'lumotlar 1849—50 yillarda ingliz olimi Addison tomonidan buyrak usti bezining faoliyatini o'rganish

natijasida yuzaga chiqqandir. Lekin "gormon" (grekcha hormao - qo'zg'ataman, uyg'otaman) degan nom fanga 1905 yillarda Beylis va Sterling degan olimlar tomonidan, o'zlarining ilmiy ishlari asosida gormonlarda shunday xususiyat juda kuchli ekanligini asoslab bergandan keyingina kiritilgandir.

Garmonlar haqidagi ta'limotga ko'ra, ma'lum bir moddaning garmonal faoliyatini tasdiqlash uchun quyidagi uchta dalil ko'rsatilishi kerak.

1. Garmon ishlab chiqariladigan organ olib tashlanganda garmonlar ta'siri yo'qolishining yaqqol belgilari ro'y berishi.

2. *Garmon* yo'qligi belgilarining avto yoki tomotransplantatlari, yoki garmon ishlab chiqaradigan organ ekstrakti vositasida bartaraf qilinishi.

3. Organning ham ekstraktidan ajratilgan toza moddaning, iloji bo'lsa sintez yo'li bilan ham olingan toza moddaning sifat jihatdan spesifik garmonal ta'sirga ega bo'lishi kerak.

Ichki sekresiya bezlari funksiyasi buzilganda turli kasalliklar kuzatiladi. Ular ayrim bezlar funksiyasining zo'rayib ketishi natijasida garmonni ortiqcha ishlab chiqarishi (giperfunksiya) yoki aktivligining susayishi natijasida kam ajratishi (gipofunksiya)ga bog'liq. Organizmning bir qismida ishlab chiqariladigan garmonni boshqa bir sohasiga tashish yo'li bilan moddalar almashinuvini tartibga solish faqat sut emizuvchi hayvonlar uchungina xos emas; umurtqasiz hayvonlar va o'simliklarda ham ba'zi garmonlar ishlab chiqariladi va ularda ham shu usulda ma'lum jarayonlar boshqarilib turadi. Sut emizuvchi hayvonlarning garmon ishlab chiqaradigan ichki sekresiya bezlari qatoriga: qalqonsimon bez, qalqon oldi bezlari, buyrak usti bezlari, oshqozon osti bezining alohida qismi, jinsiy bezlar, urug'donlar, tuxumdonlar, gipofiz yoki miya o'sig'i, buqoq bezi kiradi. Kimyoviy tabiati va ta'sir usuliga qarab garmonlarni quyidagi uch turgabo'lish mumkin.

1. *Steroid garmonlar.*

2. *Aminokislota hosilalari bo'lgan garmonlar.* 3. *Peptid va oqsil*

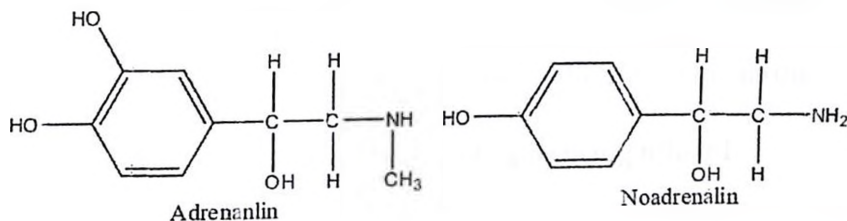
tabiatli garmonlar.

Hozirgi davrda 60 ga yaqin turli xil gormonal aktivlikka ega bo'lgan moddalar ajratib olingan bo'lib, ularning organizm funksiyalari ko'rsatadigan

ta'sirini doimo markaziy nerv sistemasi tomonidan boshqarilishi hamda ularning o'ziga xos xususiyatli ekanliklari aniqlab berilgandir.

Adrenalin va noradrenalinlar buyrak usti bezining mag'iz qavatidan ishlab chiqariladigan gormonlardir. Bu gormonlar oraganizmda asosan fenil-alanin va tirozin aminokislotalaridan sintezlanadi.

Bu gormonlarning tuzilishi quyidagicha:



Adrenalin kristall holatda ajratib olingan. (1901 yil Tokamine) va kimyoviy tarkibi o'rganilgan gormondir. Hozirgi davrda sintetik yo'l bilan ham hosil qilinmoqda. Qon tarkibida uning miqdori juda oz (tana vaznining har bir kg ga 0,00001 -mg % to'g'ri keladi. Lekin oraganizmda biror ta'sirot ro'y berganda uning miqdori tezda ko'payib ketib yurakning ish faoliyatini kuchaytirib yuboradi. Uglevodlar almashinuvini stimullaydi, jigarda glikogenni parchalanishini- kuchaytirib, qonda glyukoza miqdorini oshiradi. Adrenalinning ayrim xossalari bilan quyidagi tajribalar yordamida tanishamiz.

Qon tarkibidagi glyukoza miqdorining ortishiga adrenalinning ta'siri

Bu tajribani ma'lum. bir muddat (12-15 soat) och saqlangan

quyonning qonidan olib o'tkazish maqsadga muvofiq bo'ladi. Quyonning qoni tarkibidagi glyukozaning miqdorini ikki marta ya'ni qonga adrenalin yuborishdan oldin va adrenalin yuborilgandan 1-soatdan keyin o-toluidin metodi yordamida aniqlanadi. Glyukoza miqdorining farqiga qarab adrenalinning ta'siri haqida fikr yuritiladi.

Ishning bajarilishi. Tegishli quyonning qulog'i oldin ksilol bilan ho'llanga paxtada so'ng iliq suvda yuvib, quruq paxta bilan artilib keyin uning vena qon tomiridan 0,1 ml qon olinib o-toluidin metodi yordamida glyukoza miqdori aniqlanadi.

Keyin quyon terisi ostiga 2 ml adrenalin eritmasidan yuborib 1 soatdan keyin xuddi yuqoridagidek qon olinib o-toluidin metodi yordamida glyukoza miqdori aniqlanib, uning miqdori oshganligi haqida fikr hosil qilinadi. Bu prosesni giperglikemiya deb yuritiladi.

Adrenalin eritmasi quyon vaznining har 1 kg og'irligiga 0,4 ml adrenalin eritmasidan yuboriladi.

Insulin gormoniga xos reaksiyalar

Insulin - bu me'da osti bezining eng muhim gormoni bo'lib Langergas orolchasining β - hujayralaridan ishlab chiqiladi. Uni sof ho'lda ajratib olish usulini birinchi bo'lib 1901 yilda rus olimi Sobolev yaratgan.

Insulin tirik oraganizmدا asosan uglevodlar almashinuviga kuchli ta'sir ko'rsatadi. Qonda qand miqdori ko'payganda insulin ham ko'p ishlab chiqiladi va aksincha. Insulin qonda glyukoza miqdorini doimo normada bo'lishligini ta'minlaydi. Agarda teri ostiga insulin gormoni? yuborilsa u, qon tarkibidagi glyukoza konsentrasiyasini pasaytiradi.

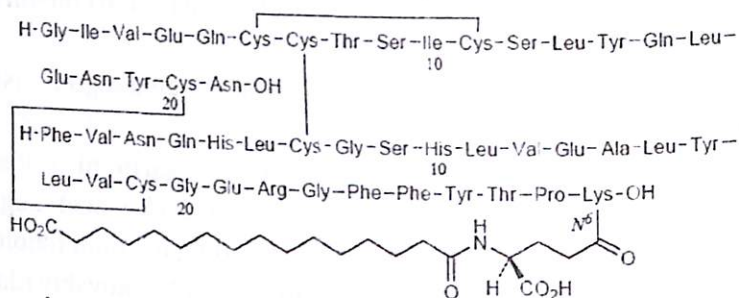
Oshqozon osti bezi yoki pankreas ikkita alohida funksiyaga ega ekanligi ko'pdan beri ma'lum: u ingichka ichakga maxsus chiqarish yo'li orqali quyiladigan, tarkibida ovqat hazm qilish fermentlari bor shira (pankreatik shira) ishlab chiqaradiki, bu uning tashqi sekresiya va bevosita qon oqimiga quyiladigan, kamida 2 ta garmon ishlab chiqaradi. Bu uning ichki sekresiyasidir. Organizmدا uglevodlar

almashinuvi regulyasiyasida muhim rol o'ynovchi bu 2 ta garmon - insulin va glyukogon. 80-90 gr keladigan bez massasining, taxminan 0,65 grammini, ya'ni 0,01 qismini tashkil etadigan Langerhars orolchalarida ishlanadi. Orolchanning sekretor hujayralari bir-biridan farqli bir nechta tipda bo'lib, ulardan a

-hujayralar insulin va β -hujayralar glyukogon ishlab chiqarilishini ta'min etadi.

Insulin. Oshqozon osti bezining asosiy garmoni - insulin bezning Langerhars orolchalarida (insula - lotincha orol degani) ishlab chiqarishi sababli shunday nom olgan. Bu garmonni fiziologik ta'sir mexanizmini o'rganish 1889 yilda Mering va Minkovskiy itlarda oshqozon osti bezini olib tashlangandan so'ng siydikda qand paydo bo'lishi va ilgari sababi ma'lum bo'lmagan qand kasalligining boshqa belgilarini kuzatib qand diabeti nomi bilan yuritiladigan bu kasallikdan oshqozon osti beziga bevosita bog'liq ekanligini ko'rsatib berdi. *Insulinning ta'siri va kimyoviy tuzilishi.* Insulinning organizm uchun ahamiyati, birinchi navbatda pankreas olib tashlangan hayvonlar yoki Langerhars orolchalarining a-hujayralari shakli o'zgarishi natijasida diabet kasalligiga duchor bo'lgan kishilarda kuzatiladigan belgilarga qarab o'rganilgan edi. Bu oqsilni molekulyar og'irligi 6000 ga teng bo'lib, u 16 xil aminokislotadan tuzilgan. Insulin tarkibida triptofan, metionin, sestein va oksiprolin uchraydi. Sendjerning aniqlashicha insulinda glisin va fenilalaninidan iborat ikkita N uchi borligini ko'rsatdi. Bu fakt molekulada ikkita zanjir: glisin zanjiri va fenilalanin zanjiri bor ekanligini isbot qiladi va bu ikkita alohida zanjirning ko'ndalang disulfid bog'lar orqali birikkanini ko'rsatdi.

Glisin zanjiri A-21 aminokislota qolidig'idan, ikkinchi fenilalanin zanjiri V-30 aminokislota qoldig'idan iborat. Insulin molekulasida A zanjirdagi 8, 9 va 10 aminokislotalar tartibi



hayvonlarning turiga qarab farqlanadi.

Glyukogon. Insulinning odatda ishlatiladigan preparatlari organizmga yuborilganda, ko'pincha, avval qonda qand miqdori ortib ketishiga e'tibor berilganedi.

Ammo, bu giperglikomiya xarakteridagi effekt kuzatiladi. Dastlabki giperglikemik effekt toza bo'lmagan insulin preparatlarida qand miqdorini orttiradigan qo'shimcha moddaga bog'liq ekanligi aniqlanib, bu garmonal moddaga glyukogon (giperglikemik, glikogenolik faktor) nomi berildi. Glyukogon hatto insulinning kristallik preparatlarida ham 0,3-0,5 % miqdorda uchraydi. So'ngra bu material kristall shaklida olindi va uning Langerhans orolchalarining a-hujayralarida ishlab chiqarilishi aniqlandi. Ammo uni oshqozon osti bezining vena qon tomiriga o'tishini aniqlab bo'lmadi. Glyukogonning 0,1 mikrogrammi mushukning 100 ml qonidagi glyukoza miqdorini 25 mg ko'tardi. Glyukogon toza kristall shaklida olingan. U 29 aminokislotalardan tuzilgan polipeptid bo'lib, molekulyar og'irligi 3482 ga teng. Glyukogon tarkibida sistin yo'q.

Insulinni natriy ishqori bilan reaksiyasi

Ishning bajarilishi. Probirkaga insulinning suyultirilgan eritmasidan 2 ml quyilib ustiga natriy ishqorining 30 % li eritmasidan ikki barobar ko'p quyib. Probirkadagi bu aralashma yaxshilab

chayqatilib ustiga mis sulfatining 1 % li eritmasidan 2-3 tomchi tomizilib chayqatiladi. Bu vaqtda aralashma qizg'ish binafsha rangga bo'yaladi. Bu aralashma tarkibidagi oqsilning peptid bog'laridan darak beradi.

Insulinni oqsil tabiatli modda ekanligini ko'rsatuvchi Biyuretreksiyasi

Ishning bajarilishi. Probirkaga insulinning suyultirilgan eritmasidan 2 ml quyilib ustiga natriy gidrooksid ishqorining 30 % li eritmasidan ikki barobar ko'p quyiladi. Probirkadagi bu aralashma yaxshilab chayqatilib ustiga mis sulfatining 1

% li eritmasidan 2-3 tomchi tomizilib chayqatiladi. Bu vaqtda aralashma qizg'ish- binafsha rangga bo'yaladi. Bu aralashma tarkibidagi oqsilning peptid bog'laridan darak beradi.

Qon tarkibidagi glyukoza miqdoriga insulinning ta'siri.

Ishning bajarilishi. 1 sutka och saqlangan quyonning quloq venasidan 0,1 ml qon olinib shu qonda glyukozaning miqdori otoluidin metodi yordamida aniqlanadi. Buning uchun quyonning qulog'i oldin ksilolda namlangan paxta bilan keyin esa suv bilan namlangan va quruq paxta bilan yaxshilab artiladi. Keyin. shu quyon terisi ostiga, quyon tana vaznining har bir kg hisobiga 1,5 birlik insulin yuboriladi. 1 soatdan keyin xuddi yuqoridagi tartibda quyonning quloq venasidan 0,1 ml qon olib, yuqorida ko'rsatilgan metod bo'yicha glyukoza miqdori aniqlanadi.

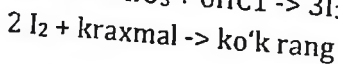
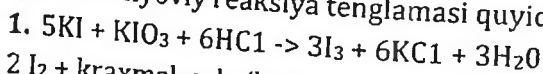
Qon tarkibidagi oldingi va keyingi tajribadagi glyukoza miqdorini solishtirib, uning miqdori insulin ta'sirida ancha kamayganligi haqida fikr hosil qilinadi. Buni gipoglikemiya prosessi deb yuritiladi.

Ikkinchi marta qan olingandan keyin, quyon terisi ostiga tezda insulin shokini oldini olish maqsadida 5—6ml glyukoza eritmashidan yuboriladi.

Tireoidin tarkibidagi yodni aniqlash

Tiroksinni ishqoriy muhitda gidrolizlash natijasida kaliy yodid hosil bo'ladi. Unga kaliy yodad ta'sir ettirilganda yod ajraladi. Ajralgan yodni kraxmal ta'sirida hosil bo'lgan ko'k rangdan bilish mumkin.

Ushbu kimyoviy reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Bajariladigan ish tartibi. 1. Tireoidning bitta tabletkasi chinni hovonchada eziladi. Kukun probirkaga olinib, ustiga 3 ml kaliy karbonat eritmasi solinadi va aralashtiriladi. So'ngra probirkaning ustini yopib, qum hammomida 10-15 daqiqa qaynatiladi. Tiroksin gidrolizlangandan keyin gidrolizat sovitiladi va sulfat kislota bilan neytrallanadi. Gidrolizat lakmus bo'yicha kuchsiz kislotali holatga keltiriladi. Unga bir tomchi kraxmal eritmasi 1-2 tomchi kaliy yodid eritmasidan solib aralashtiriladi. Suyuqlik yoa ajralgan taqdiridagina ko'k rangga kiradi.

Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlarga sifat reaksiya

Usulning asoslanishi. Ushbu usul 17-ketosteroidlarning M-dinitrobenzol bilan ta'sirlanib ishqoriy muhitda kondensatsiyalangan pushti-binafsha rangli mahsulotga aylanishiga asoslangan.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga 20 tomchi siydik va 30 tomchi M-dinitrobenzol eritmasi solinadi (M-dinitrobenzol sekin devor bo'ylab solinadi). Probirkani silkitmaslik kerak. Xuddi shu yo'l bilan 6 tomchi natriy gidroksid solinadi. Suyuqlikning yuqori qavatini pushti-binafsha rangga bo'yalganligi kuzatiladi.

Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlar miqdorini aniqlash

Usulning asoslanishi. 17-ketosteroidlar m-dinitrobenzol bilan ta'sirlanib, ishqoriy muhitda binafsha-pushti rangga kiradi. Rangning

och-to'qligi 17-ketosteroidlar miqdoriga bog'liq.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Glukoronidlarni gidrolizlash. 17-ketosteroidlar glukuron kislota bilan kompleks holda uchraganligi uchun kislotaii gidroiiz yo'li bilan sof holda ajratib olinadi. Buning uchun ikkita quruq stakanga sutkalik siydikdan 20 ml olinadi va unga konsentrlanganvodorod xloridaan 3 ml, konsentrlangan sirka kislotadan 1 ml, 40% li formalindan 0,2 ml solinadi. Suyuqliklar aralashtirilib (chayqatilib), stakanlar voromca bilan berkitiladi va qaynab turgan suv hammomiga qo'yiladi. Suv qaynashga boshlagandan rosa 15 daqiqa o'tgach, suyuqliklar gidrolizlanadi. Gidroiiz tugagach, stakanlar sovuq suv tagida sovitiladi va har qaysi stakandagi suyuqlik alohida ajratuvchi voronkalarga o'tkaziladi.

2.17-ketosteroidlarni ekstraksiya qilish va tozalash. Gidrolizat 10 ml efir bilan 2marta ekstraksivalanadi va suyuqliklar ajratuvchi vororikada 1,0-1,5 daqiqa davomida chayqatiladi. Suyuqliklar qatlamlarga ajralishi bilan yuqorisidagi efir tutuvchi qatlam boshqa quruq kolbaga olinadi, tagiaagi qatlam esa gidrolizlangan stakanga qaytadan olinadi va ustiga yana 10 ml efir solib aralashtiriladi. Suyuqliklar Ikki qatlamga ajralguncha ajratuvchi voronkada chayqatiladi (1-2 daqiqa). Yuqori qatlamdagi suyuqlik oldingi suyuqlikka qo'shiladi. Efir tutuvchi suyuqlik - ekstrakt 10 ml 10% li natriy gidroksid bilan uch marta ajratuvchi voronkada yuviladi. Nordon moddalar va estrogen tutuvchi ishqoriy qatlam cub tashlanib, efir ekstrakti 10 ml distillangan suv bilan yuviladi. Pastki suv tutuvchi qatlam to'liq tortib olinadi. Ketosteroidlar tutuvchi efir ekstrakti esa oz-ozdan sentrifuga probirkalariga o'tkaziladi.

3. Efirli ekstraktni bug'latish. Efirli ekstrakt solingan sentrifugali probirka shtativga o'rnatiladi va 50-55°C li suv hammomiga quruq qoldiq qolguncha bug'latiladi. Quritilgan ekstrakt rangsiz bo'lishi kerak. Mana shu bosqichdan so'ngtajribalar keyingi kungacha sovitgichda qoldirilishi mumkin. Probirkalar paxta bilan berkitiladb

4. Fotometrlash. Ekstraktning (rangsiz) quruq qoldig'iga

96% li etil spirtidan 0,2 ml, m-dinitrobenzolning 2% li spirtli eritmasidan 0,2 ml va kaliy gidroksidning 5N eritmasidan 0,2 ml solinaai. Suyuqliklar- ehtiyotkorlik bilan aralashtiriladi va rang rivojlanishi uchun xona baroratida qorong'i joyda bir soatga qoldiriladi. Bir ozdan so'ng suyuqliklarga 50% li etil spirtidan 3 ml va xloroformdan 2 ml solib chayqatiladi. Binafsha-pushti rangga bo'yalgan mahsulot pastki qatlamga o'tadi. Yuqoridagi spirtli qatlamda sarg'isn-jigar rang bo'yoq qoladi. 1 -2 daqiqadan so'ngbu qatlam suv tortgichga ulangan Paster pipetkasi yordamida juda sekinlik bilan tortib olinadi. Xloroformh qavatning pipetkaga so'rilishidan saqlanish kerak. Qolgan xloroformh qavatga 96% li etil spirtidan 1 ml solinadi va aralashtiriladi. Hosil bo'lgan rang b«r soat saqlanadi. Rangning zichligi FEK ning 530 nm to'lqin uzunligida (yashil nur filtri), 5mm li kuvetada nazorat tajriba suyuqligi qarshisida yoki suv qarshisida o'lchanadi.

Nazorat tajriba suyuqliklarini tayyorlash. Ikkita probirkaga 96% li etii spirtidan 0,2ml, m-dinitrobenzolning spirtli eritmasidan 0,2 ml va metanolda tayyorlangan kaliygidroksidning 5N eritmasidan 0,2 ml solib aralashtiriladi. Qolgan ish tarti tekshiruvtajribadagidek o'tkaziladi.

Hisoblash. 17-ketosteroidlarning miqdori oldinaan tayyorlangan o'lchov egri chiziq yoki quyidagi tenglama bo'yicha aniqlanadi. Tenglama bc'yicha hisoblash:

$$X = A \cdot E_{\text{teksh}} \cdot D / 1,45 \cdot 20$$

Bunda X - bir sutkada yig'ilgan siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlar miqdori, mg. A-bir sutkalik siydik miqdori (sutkalik miqdor), E_{teksh} - tekshiruv tajribaning optik zichligi, D - bir sutkalik siydik miqdori, ml, 1.45 - hisoblash qiymati, 20 - aniqlash uchun olingan siydik miqdori, ml.

Bir sutkada ajratilgan 17-ketosteroidlarning siydikdagi miqdori erkaklar uchun 44,48-2,27 mkmol/sut (12,83-0,8mg/sut), ayollar uchun 36,78-2,38 mkmol/sut (10,61-20,66mg/sut) ni tashkil qiladi. Bu miqdor turli kasalliklarda turlicha o'zgarishi mumkin.

33-MAVZU. QON BIOKIMYOSI. GEM METABOLIZMI VA TEMIRALMASHINUVI

Qon zardobidagi bilirubin miqdorini diazoreaktiv yordamida unikatsiyalangan usulida aniqlash

Bilirubin retikuloendotelial sistemasi hujayralarida, xususan jigarning kupfer hujayralarida gemoglobinning prostetik guruhi gemdan hosil bo'ladi va erkin bilirubin deb atalib, suvda erimaydi va Erlix diazoreaktivi bilan reaksiyaga kirishgani uchun bog'-lanmagan yoki bilvotsita bilirubin deb ham nomlanadi. Reaksiyani bogelanmagan deb nom olishiga sabab, unga eruvchanligini oshiruvchi moddalar (kofeinli reaktiv; metil, etil spirtlari) qo'shilganda pushti-binafsha rang pay do bo'ladi.

Bog'lanmagan bilirubin qon tarkibida albumin bilan birikkan ko'rinishda uchraydi. U qon bilan jigarga tushgach, jigar hujayralarining endoplazmatik retikulumidagi UDF-glukuronozid transferaza (KF 2.4.1.95) fermenti ishtirokida glukuron kislotasi bilan birikib, bilirubin diglukuronidini hosil qiladi.

Reaksiyada glukuron kislotasining faol shakli - uridindifosfoglukuron kislotasi qatnashadi. Bilirubinning glukuron kislotasi bilan bergan birikmasi suvda yaxshi erigani uchun uni bevotsita bilirubin deb atalib, bilirubinni Erlix diazoreaktivi bilan bevotsita bog'lanishi tushuniladi. Diglukuronid bilan bir qatorda biroz miqdorda monoglukuronid ham hosil bo'ladi.

Erkin va bog'langan bilirubin yig'indisi qon zardobining "umumiy bilirubin" miqdorini tashkil qiladi. Qon zardobida bilirubin miqdorini 2 mg% gacha ortishi sariqlik paydo bo'lishi bilan birga kuzatiladi. Umumiy bilirubin va uning fraksiyalarini aniqlash har xil shakldagi sariqliklarga tashxis qo'yishda muhim ahamiyatga ega.

Jigar parenximasi shikastlanishi oqibatida kuzatiladigan sariq kasalliklari (gepatitlar, sirrozlar)da qondagi bilirubinning ikkala fraksiyasi aniqlanganda, bog'langan shakli ko'proq bo'ladi. O't

yo'llarini bekilishi oqibatida kelib chiqadigan mexanik sariqlikda bilirubinning miqdori asosan bog'langan bilirubin hisobiga oshadi, chunki bu sharoitda bilirubinni jigardan ichakka va undan qonga o'tish imkoniyati chegaralangan bo'ladi.

Yangi tug'ilgan chaqaloqlardagi fiziologik sariqlikda va boshqa gemolitik sariqliklarda eritrotsitlarni gemolizga uchrashi natijasida bilirubinni hosil bo'lish miqdori kuchayadi, bu esa qonda bog'langan bilirubin darajasini oshiradi.

Sulfonil kislotasining xlorid kislotasi (diazoreaktiv I) va azot oksidi (diazoreaktiv II) bilan o'zaro reaksiyaga kirishishidan diazofenilsulfon kislotasi hosil bo'ladi.

Diazosulfon kislotasi qon zardobidagi "bog'langan" bilirubin bilan bergan birikmasi pushti-binafsha rangli kompleks bo'lib, rang jadalligi bo'yicha fotokolorimetrdagi bog'langan bilirubin miqdori aniqlanadi.

Qon zardobiga kofeinli reaktiv qo'shilganda erkin bilirubin dissotsiyalangan eruvchan holatiga o'tadi va diazoreaktivlari (I va II) aralashmasi bilan pushti-binafsha rang beradi. Rangning jadalligi bo'yicha fotokolorimetrdagi umumiy bilirubin miqdori aniqlanadi.

Umumiy va bog'langan (bevotsita) bilirubinning orasidagi ayirma asosida erkin (bilvotsita) bilirubin miqdori topiladi.

Ishni bajarilishi

4. Uchta probirkaga (umumiy, bog'langan (bevotsita) bilirubin va nazorat namunalari uchun) 0,5 ml dan qon zardobi va jadvalda ko'rsatilgani bo'yicha reaktivlar solinadi.

Bilirubinni aniqlash uchun olingan aralashmalar tarkibi.

Aralashma qismlari	Umumiy bilirubin	Bog'langan (bevotsita) bilirubin	Nazorat
Zardob	0,5		
Kofeinli reaktiv	1,75	0,5	0,5
0,9% natriy xlorid		-	1,75
Diazoaralashma	0,25	1,75	0,25
		0,25	-

1. Har bir reaktiv zardobga qo'shilganidan key in probirkadagi suyuqlik yengil aralashtiriladi.

2. "Bog'langan" bilirubinni aniqlashda diazoaralashma qo'shilgandan 5-10daqiqqa o'tgach, fotoelektrokolorimetrlash kerak bo'ladi, chunki uzoq vaqt turib qolsa, reaksiyada bog'lanmagan bilirubin ham qatnashadi.

3. Umumiy bilirubinni aniqlashda rang jadalligini kuchaytirish maqsadida namuna 20 daqiqaga qoldiriladi, so'ngra kolorimetrlanadi. Keyinchalik vaqt muddatining uzayishi rangni o'zgardirmaydi.

4. Fotometrlash 500-560 nm (yashil svetofiltr) da 0,5 sm qalinlikdagi kyuvetada suvga nisbatan o'tkaziladi. Umumiy va bog'langan bilirubinni kolorimetrlashda olingan optik zichlik ko'rsatkichidan nazorat optik zichlik ko'rsatkichi ayiriladi.

5. Hisoblash kalibr lash grafigi asosida bajariladi. Buning uchun umumiy va bog'langan bilirubin miqdori topiladi. Bog'lanmagan bilirubin miqdorini aniqlashda umumiy bilirubin miqdoridan bog'langan bilirubin miqdori ayirib tashlanadi.

6. Kalibrlovchi grafik tuzishda bilirubinning ishchi standart eritmasidan har xil miqdorda bilirubin saqlagan bir necha probirkalar tayyorlanadi.

7. Har bir probirkaga 1,75 ml dan kofeinli reaktiv va 0,25 ml dan diazoaralashma solinadi. Agar loyqalanish paydo bo'lsa, uch tomchidan 30% o'yuvchi natriy tomiziladi, 20 daqiqadan so'ng tajriba namunasi o'tkazilgansharoitda o'lchanadi.

8. Standart eritmalar kabi kompensatsion suyuqlikdan suyultirilgan eritmalar tayyorlanadi va ularning standart nanunalar singari fotometrlanadi.

Bilirubinni suyultirish uchun tayyorlangan aralashmalar tarkibi

N ^o probirka	Billirubinning ishchi eritmasi, ml	Natriy xloridning 0,9%eritmasi, ml	Namunadagi billirubinning miqdori, mg	Billirubin miqdori, mg %
1.	0,05	0,45	0,005	1
2.	0,1	0,4	0,01	2
3.	0,15	0,35	0,015	3
4.	0,2	0,3	0,02	4
5.	0,25	0,25	0,025	5

9. Standart namunalar ekstinksiya kattaligidan unga moslab suyultirilgan kompensatsion suyuqlikning ekstinksiya kattaligi ayirib tashlanadi va olingan farqi bo'yicha kalibr lash grafigi tuziladi. Ordinata o'qiga standart namunalar bilan kompensatsion suyuqlik namunalari orasidagi ekstinksiya farqi, absissa o'qiga esa

- bilirubinning mg% dagi ularga mos miqdori q o'yiladi.

Normada umumiy bilirubin miqdori 0,5-1,2 mg% (8,6-20,5 mkmol/1).

Ko'rsatilgan miqdordan 75% bilvotsita (bog'lanmagan) bilirubin hissasidan iborat.

Eslatmalar.

1. Zardob gemolizlangan bo'lmasligi kerak.
2. Bilirubinni aniqlash oldidan tekshirilayotgan shaxs dorilar qabul qilmasligi yoki zardob rangini sun'iy o'zgartiruvchi mahsulotlar (sabzi, apelsinlar) va C vitamini iste'mol qilmasligi lozim.
3. Kalibrlovchi garfikni liofilizirlangan bilirubin tayyor yig'ma reaktivlari bilan ham tuzish mumkin (ishchi va suyultirilgan etalonli eritmalarini tayyorlash 69-, 70-ilovalarda).
5. Hisoblash natijasini SI birligi (mkmol/1) o'tkazishda 17,1040 koeffitsiyentidan foydalaniladi.

Qon zardobi tarkibidagi temirni miqdorini aniqlash

Usulning asosi: qon zardobi mineralizatsiyalanganidan so'ng organik birikmalardan ajralgan temir kaliy tiosianidi bilan nordon

muxitda pushti –qizil rangli birikma hosil qiladi. Rangli eritma kolorimetrlanadi.

Ishning borishi:

1- probirkaga 0.5ml zardob va 1ml sulfat kislota (kons) solinadi

2- probirkaga 0.5ml standart eritma va 1ml sulfat kislota (kons) solinadi Probirkalar 10-15 minut bug' chiqishi tugaguncha qizdiriladi.

Probirkalarga 0.5ml perxlorat kislota solinib, eritma tiniqlanguncha qizdirish davom ettiriladi.

Probirkalarga 0.5ml suv va 0.2ml kaliy tiosulfat eritmasi solinadi (bunda Fe^{2+} Fe^{3+} ga aylanadi). Sovitilgan probirkalarga 1ml dan 25% natriy tiosulfat eritmasi solinadi va aralashtiriladi.

Probirkalarga 3ml dan tamil spirti quyilib aralashtiriladi.

Rangli eritmalar FEK ning (490-520nm) ko'k nurida kolorimetrlanadi. Sog'lom odam qon zardobida 17mkmol/l (80-160mg/dl) bo'ldi.

34-BIRIKTIRUVCHI TO'QIMA BOKIMYOSI.

MUSHAK BOKIMYOSI

Siydikda oksiprolinni aniqlash

Usulning asoslanishi: Usul gidroksipropolin vodorod peroksidining mis (II) ionlari ishtirokida pirrolgach oksidlanishiga asoslangan. Pirrol kislotali muhitda paradimetilaminobenzaldigid bilan pushti rang hosil qiladi.

Ishning borishi. Ikkita probirkaga (nazorat va tajriba), 1 ml dan filtrlangan siydik, 1 ml dan 0,01M mis sulfat eritmasi, 1ml dan NaOH 2.5M eritmasi, 1 ml 6% H_2O_2 eritmasi qo'shiladi. Aralashtirishdan so'ng, ikkala namuna 70°C da 10 daqiqa qoldiriladi va vaqti-vaqti bilan aralashtiriladi. Namunalar muz hammomida sovitilib, 4 ml dan 3N H_2SO_4 va 2ml Erlix riaktivi (5% paradimetilaminobenzaldigidning prorpanoldagi eritmasi) qo'shiladi. Nazorat namunasi muzda, tajriba namunasi esa 100°C da 80 soniya qaynatiladi. Tajriba namunasi

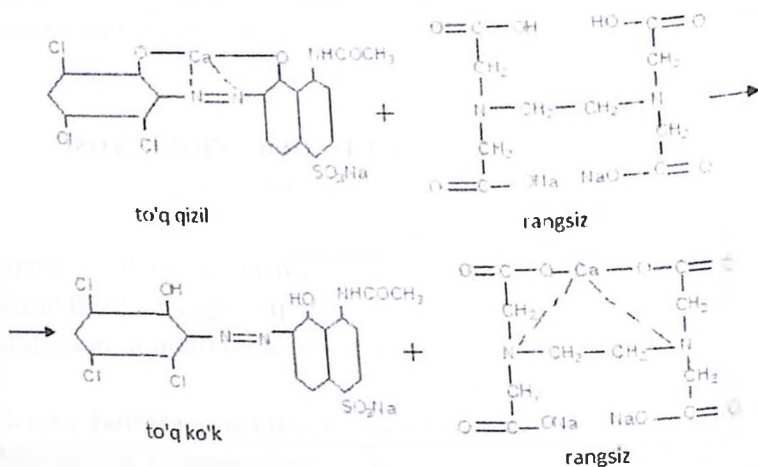
pushti rang hosil bo'ladi. Ikkala namuna FEKning yashil nurida 10mm kyuvetada o'lchanadi.

Sog'lom odam sutkalik siydigida 8 mg oksprolin ajraladi (172mol/l). qonzardobida 12.68mkmol/l.

35-MAVZU. KALSIY VA FOSFOR METABOLIZMI. MIKROELEMENTLAR. TISH QATTIQ TO'QIMA BIOKIMYOSI. SO'LAK BIOKIMYOSI

Biologik suyuqliklarda kalsiyni aniqlash

Usul asoslanishi. Bu usul ma'lum organik birikmalar (komplekslar) da kaltsiy ionlari bilan o'zaro aloqada bo'lish qobiliyatiga asoslanadi. Trilon B (etilendiaminteteraatssetat - EDTA ning dinatriyli tuzi). Dastlab to'q xrom ko'ki indikator bilan bog'liq kaltsiy ionlari Trilon B. tomonidan bog'lanadi.



Ishning borishi. probirkaga 1,0 ml qon zardobi oqsilsiz filtrati quyiladi. 5 mlammiak buferi, 5-6 tomchi indikator qo'shiladi. Rang o'zgariguncha titrlanadi.

Hisoblash:

$$\frac{0,05 \cdot 2 \cdot 1000 \cdot A}{40 \cdot A}$$

Bunda -A -titrlashda sarflangan Ttrilon B Λ -tahlil uchun olingan qon zardobi

0.05- Ttrilon B konsentratsiyasi 1000- mol/l o'tkazish koeffisienti

2- Ttrilon B ning kalsiyga ekvivalenti 40- kalsiy atom og'irligi

Sog'lom odam qon zardobidagi kaltsiy miqdori 2.2 -2.8 mmol/l, so'lakdagi kaltsiy

36-MAVZU. SO'LAKNING FIZIK-KIMYOVIY XOSSALARI

So'lakning fizik-kimyoviy xossalari

So'lak - rangsiz, kam opalastsentsiyalanuvchi, oson ko'piklanuvchi suyuqlik, solishtirma og'irligi 1,0002-1010. Sutkada odam so'lak bezlaridan 1500 ml so'lak ajraladi. Tarkibi 99,4% suv, 0,6% quruq modda. Quruq moddaning 50% dan ko'pi oqsillardir. Oqsillar asosan globulinlar, glikoproteidlar, fermentlar (amilaza, maltaza, katalaza, DNK-aza). So'lak pH 6,8-7.0. So'lakda mineral moddalardan rodanidlar mavjud. Rodanidlar chekuvchi odamlarda yuqori bo'ladi, sababi organizmga tamaki tutuni bilan tsianid kislota kirishidir.

A) **So'lak muhitini aniqlash.** Lakmus bilan aniqlanadi.

Ishning borishi

Probirkaga 1-2 ml so'lak solinib, lakmusga yordamida muhiti aniqlanib, fil'trlanadi. Probirkaga bir necha tomchi so'lak tomizilib, universal indikatoridan bir tomchi tomiziladi va rangli shkala orkali pH aniqlanadi.

B) **So'lak tarkibidan oqsillarni aniqlash.** Biuret usuli bilan aniqlanadi.

C) **So'lakda mutsinni aniqlash.** Mutsin glikoprotein bo'lib, uning eritmalari katta yopishqoqlikka ega. Shuning uchun ovqat luqmasi oson siljiydi, bu esa uni yutilishini osonlashtiradi. Mutsin so'lakka kontsentrlangan sirka kislota ta'sir ettirilganda cho'kmaga

tushadi.

Ishning borishi.

Probirkaga 2 ml so'lak solinadi, ustiga 4-5 tomchi konts. Sirka kislota qo'shiladi. Mutsin cho'kmaga tushadi. CHo'kmani shisha tayoqcha yordamidaolinib, toza probirkaga o'tkaziladi.

D)so'lakda globulinlarni aniqlash. № 1 fil'tratda mutsindan boshqa barcha oqsillar bor. Globulinlarni bu fil'tratda rangli reaksiyalar yoki cho'ktirish bilan aniqlash mumkin.

Ishning borishi.

Fil'trat 2 qismga bo'linadi. 1-da biuret reaksiyasi o'tkaziladi. 2-1/3 miqdordaammoniy sul'fat to'yingan eritmasi solinib, qaynatiladi. Oqsil cho'kmaga tushadi.

E) katalazani aniqlash. Katalaza vodrod peroksidni suv va kislorodga parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Ishning borishini ajralayotgan kislorod pufakchalariga qarab belgilanadi.

Ishning borishi.

1 ml so'lakga 1 ml 1% li vodorod peroksid quyiladi. Kislorod pufakchalari ajralishi kuzatiladi.

F) rodanidlarni aniqlash. So'lak rodanidlari temir (III) xlorid eritmasi qo'shilishi bilan qizil rang hosil bo'lishi bilan aniqlanadi.

Ishning borishi.

Probirkaga 5 tomchi so'lak, 2 tomchi 2% li xloid kislota, 2 tomchi 0,01% li temir (III) xlorid eritmasi qo'shiladi. Qizil rang hosil bo'lib, rangning intensivligi rodanidlar kontsentratsiyasiga to'g'ri proporsionaldir.

G) Amilaza faolligiga haroratning, muhitning va ingibitorlarning ta'sirini o'rganish.

Ishning borishi.

Probirkaga 1 ml so'lakka 9 ml dist.suv qo'shib amilaza eritmasi tayyorlanadi. Probirkaga 1 ml 1% kraxmal eritmasi va 1:10 suyultirilgan amilazadan 0,5 ml olib 38-40 S da 10 daqiqa ushlanadi. Vaqti-vaqti bilan eritmadan bir necha tomchi olib yod tomiziladi. 10 daqiqa ichida kraxmal to'liq parchalanadi va sariq rangga kiradi.

Amilazaning optimal muxitini topish uchun qator probirkalarga turli muxitli fosfat buferi solinadi. Probirkadagi suyuqliklar aralashtirilib, 10 daqiqaga 38-40 S li suv xammomiga qo'yiladi. Bir ozdan so'ng xar bir probirkaga yod eritmasi tomiziladi. Amilaza ta'sir qiladigan optimal muhitni aniqlab, tegishli xulosa chiqariladi.

ILOVA

Laboratoriya mashg'ulotlar uchun zarur bo'lgan ba'zi reaktivlarni tayyorlash usullari

1. Agar-agar parchasini tayyorlash. 10 % li agar-agar parchasini tayyorlash uchun 20 g agar-agarni kimyoviy stakanga solib, uning ustiga 80 ml distillangan suv quyib elektr plitkada yoki gaz gorelkasida qizdiriladi. Qizdirish davomida stakandagi agar-agar aralashmasi shisha tayoqcha bilan aralashtirib turiladi. Hosil bo'lgan quyuq atala ustiga 2 % li kraxmal eritmasidan solib aralashtiriladi, so'ngra uni Petri kosachasiga ko'chiriladi. Agar-agar Petri kosachasida bir tekisda qotgandan keyin, uning ustiga uzunasiga kesilgan unayotgan urug' bo'laklari yopishtirib qo'yiladi.

2. Azobenzol eritmasini tayyorlash. 14,5 mg azobenzolni 100 ml spirtida eritiladi. Bu eritma 2,35 mkg ml karotinga to'g'ri keladi.

3. Amilaza shirasini olish. Unayotgan bug'doy, arpa, suli urug'idan (maysasidan) 8—10 g olib, chinni hovonchada yanchiladi. So'ngra hovonchani issik distillangan suv bilan yuvib, 50 ml li o'lchov kolbasiga o'tkaziladi va yarim soat tinch qoldiriladi. Bundan keyin filtrlanadi. Filtrat amilaza ferment sifatida ishlatiladi. Ferment shirasini tajriba boshlanishidan oldin tayyorlash kerak.

4. Anilinning spirtli eritmasi. Anilin spirtida 1:6 nisbatda eritiladi. Tayyorlangan eritma maxsus qora rangdagi idishlarda yoki usti qora qog'oz bilan o'ralgan shisha idishlarda saqlanadi.

5. Asetat buferini tayyorlash. 1 n sirka kislota (CH_3COOH) bilan 1 n natriy asetat (CN_3COONa) eritmalari 1:1 nisbatda aralashtiriladi. Shu nisbatda tayyorlangan aralashmadagi pH-4,7 ga teng bo'ladi.

6. Ganus eritmasi. 13 g yod kristali 100 ml sirka kislotada eritiladi. So'ngrauning ustiga 8,2 g brom qo'shib, hajmi sirka kislotaga bilan 1:1 ga keltiriladi. Tayyorlangan eritma maxsus rangli idishda saqlanadi.

7. Gyubl eritmasi. Bu eritma ikki qismdan iborat bo'ladi: 1)

30 g simob (II)-xlorid (sulema ehtiyot bo'ling!), 500 ml 96% li etil spirtida eritiladi, 2) 25 g yod kristali 500 ml 96% li spirtida eritiladi. Tayyorlangan eritmalar ayrim-ayrim holda shisha idishlarda saqlanadi. Tajriba boshlashdan ikki kun oldin, eritmalar 1:1 nisbatda olinib, ularning ustiga solishtirma massasi 1, 19 bo'lgan xlorid kislotadan 25 ml qo'shiladi.

8. **Diazoreaktiv.** 0,9 g sulfanil kislotani 9 ml konsentrlangan xlorid kislotada eritiladi. Agar sulfanil kislotada yaxshi erimasa, unga 2—3 tomchi distillangan suv qo'shib qizdiriladi. So'ngra aralashmaning 100 ml hajmi o'lchov kolbasiga solinadi va distillangan suv bilan o'lchov chizig'igacha yetkaziladi. Tayyorlangan eritma qora rangli shisha idishlarda yoki qora qog'oz bilan o'ralgan shisha idishda, sovutgichda saqlanadi.

Tajriba boshlashdan oldin bu tayyorlangan eritmadan 1,5 ml olib, ilgari muzga (sovutgichga) qo'yilgan 50 ml li o'lchov kolbasiga solinadi. So'ngra uning ustiga 1,5 ml yangi tayyorlangan 5 % li natriy nitrat eritmasidan qo'shib, 5 daqiqa muzga qo'yib sovutiladi. Kolbadagi aralashma yaxshilab chayqatiladi va uning ustiga 5 % li natriy nitrat eritmasidan yana 6 ml qo'shib, hajmi distillangan suv bilan 50 ml ga yetkaziladi. Tayyorlangan eritmadan bir sutka davomida foydalanish mumkin. Reaktiv sovutgichda saqlanadi.

9. **Dixlorfenolindofenolning 0.001 n li eritmasi.** Bu reaktivni tayyorlashda Serensen tomonidan tavsiya etilgan bufer eritmasidan foydalaniladi. 9,078 g KH_2PO_4 va 11,867 g Na_2HPO_4 tuzlaridan olib, ularni ayrim-ayrim holda 1:1 distillangan suvda eritiladi. Tayyorlangan eritmalar ham alohida-alohida shisha idishlarda saqlanadi. So'ngra, 2,6- dixlor-fenolindofenoldan 0,25 g olib, 700 ml distillangan suvda 1 l li o'lchov kolbasida eritiladi. Uning ustiga, tayyorlangan KH_2PO_4 va Na_2HPO_4 eritmalaridan

$\frac{\text{KH}_2}{\text{PO}_4} \cdot 2$ — nisbatda olib aralashtiriladi (bu aralashmaning pHi 6,9—7,0

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 3$

atrofida bo'ladi) va o'lchov kolbasining chizig'igacha aralashma qo'shiladi. Eritma bir kundan keyin filtrlanadi. Filtrlash oldidan eritma yaxshilab aralashtiriladi. Shu usulda tayyorlangan 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi, to'yingan oksalat kislotasi ammoniyli tuzi ishtirokida Mor tuzining eritmasi bilan titrlash orqali, uning aniq titri topiladi. Titrlash uchun olingan har 10 ml 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasiga 5 ml oksalat kislotaning ammoniyli tuzidan qo'shiladi.

10. **Ishqor eritmasi.** 5,76 % li natriy karbonat va 4 % li natriy gidroksid eritmalari alohida-alohida tayyorlanadi. Ish boshlashdan oldin bu eritmalar 1:1 nisbatda aralashtiriladi.

11. **Yod eritmasi.** 20 g kaliy yodid 100 ml distillangan suvda eritiladi. So'ngra 1 g yod kristali tarozida tortib olinadi va tayyorlangan KJ eritmasida eritiladi. Shu usulda tayyorlangan yodning konsentrlangan eritmasidan ma'lum miqdorda olib, distillangan suv bilan 1:5 nisbatda suyultirilgach, tajribalarda ishlatiladi.

Yod eritmasi (kraxmalni aniqlash uchun). 7,5 g yod kristali 7,5 g kaliy yodid bilan chinni hovonchada 5—10 ml distillangan suv ishtirokida yanchiladi. So'ngra aralashma 250 ml hajmdagi o'lchov kolbasiga o'tkaziladi. Chinni hovoncha 3—4 marta distillangan suv bilan yuvilib, kolbaga solinadi, aralashma hajmi esa distillangan suv bilan 250 ml ga keltiriladi va eritma filtrlanadi.

12. **Kumush nitratning ammiakdagi eritmasi.** 5 g kumush nitrat tuzidan olib, uni 50 ml distillangan suvda eritiladi. Agar eritma ustiga konsentrlangan ammiakdan bir necha tomchi tomizilsa, cho'kma tushadi. Cho'kma ustiga ammiak tomizishni davom ettirsak, u qayta eriydi. So'ngra, eritma hajmi distillangan suv bilan 100 ml ga keltiriladi.

13. **Millon reaktivi.** 40 g simob 57 ml konsentrlangan nitrat kislotada, avvalxona haroratida, keyin esa suv hammomida qizdirish bilan eritiladi. Eritma ikki barobar hajmdagi distillangan suv bilan suyultirilib, ma'lum vaqt tinch qoldiriladi. Hosil bo'lgan cho'kmali

suyuqlikning ustki qismi cho'kmadan ajratib olinadi.

14. **Mor tuzining 0.01 n eritmasi.** 3,92 g mor tuzi $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ olib, uni 1:1 hajmdagi 0,02 n sulfat kislodata eritiladi.

15. **MS-reaktivi.** 0,1 g karbamid (mochevina)ni (9 ml) 96% li etil spirtida eritib, uning ustiga 1 ml xlorid kislotaaning 1 n eritmasidan qo'shiladi.

16. **Natriy gidroksidning spirtidagi 0.25 n eritmasi.** 5 n natriy gidroksid eritmasidan 25 ml olib, 350 ml 96% li etil spirtga aralashtiriladi va uning hajmi distillangan suv bilan 500 ml ga keltirilib, so'ngra eritma filtrlanadi.

17. **Natriy xloridning spirtidagi eritmasi.** 20% li natriy xlorid eritmasidan 50 ml olib, 350 ml 96% li etil spirt bilan aralashtiriladi. So'ngra, uning hajmi distillangan suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

18. **a-naftolning 0.2 li eritmasi.** 0,4 g a-naftol olib, uni 50 ml etil spirtida eritiladi. Tajriba qilish oldidan undan 5 ml olib, 20 ml distillangan suv bilan suyultiriladi.

19. **Nilander reaktivi.** 2 g vismut nitratning asosli tuzi — $\text{BiOH}(\text{NO}_3)_2$ va 4 g segnet tuzidan olib, 100 ml hajmdagi natriy gidroksidning 10% li eritmasida qizdirish yo'li bilan eritilib, keyin filtrlanadi.

20. **Oqsil eritmasi.** 1—2 ta tuxum oqsili olib, 1 l distillangan suvda eritiladi.

21. **Oqsilning tuzli eritmasi.** Oqsillarni dializ qilishda va ularni cho'ktirishda oqsilning osh tuzidagi eritmasi ishlatiladi. Buning uchun 3 ta tuxum oqsili 700 ml distillangan suvda eritilib, uning ustiga 300 ml natriy xloridning to'yingan eritmasi solinadi. Eritma filtrlanadi.

22. **Orsin reaktivi.** 1 g orsin, 500 ml 30 % li xlorid kislodata eritilib, uning ustiga 10 % li temir (III)-xlorid eritmasidan 4—5 ml solinadi. Tayyorlangan eritma og'zi berkitilgan qora rangli shisha idishlarda saqlanadi.

23. **OTS reaktivi.** 0,4 g salisilat kislota 96% li etil spirtning 10

ml da eritilib, uning ustiga 0,5 ml orto-toluidin qo'shiladi.

24. **Rodanbromid reaktivi.** Kolbaga kaliy rodanid (KCNS) yoki ammoniy rodanid (NH_4CNS) ning 0,1 n eritmasidan 10 ml olib, uning ustiga 1 g KVG kristalidan va 17 % li xlorid kislotadan 1 ml solinadi. So'ngra aralashma ustiga 2 ml brom quyiladi.

25. **Selivanov reaktivi.** 0,05 g rezorsin olib, 20 % li xlorid kislotaning 10 ml da eritiladi.

26. **So'lak eritmasi.** Suyultirilgan so'lak eritmasi tayyorlash uchun engavval, og'iz bo'shlig'i distillangan suv bilan yaxshilab chayib tashlanadi. Og'iz bo'shlig'i ovqat qoldiqlaridan tozalangach, og'izga distillangan suv olib, 1—2 daqika tutib turiladi. Keyin esa stakanga solinadi. So'ngra uning hajmi distillangan suv bilan 10 ml ga keltiriladi. So'lak aralashmasi filtrlanadi. Filtrat, amilaza fermenti manbai sifatida ishlatiladi.

27. **Temir (III)-sulfat eritmasi.** Temir (III)-sulfat $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ dan 50 g olib, 200 g (108,7 ml) konsentrlangan sulfat kislotada eritiladi. So'ngra uning hajmi distillangan suv bilan 1:l ga yetkaziladi.

28. **Temir (III)-sulfatning ammoniyli tuzi eritmasi.** Bu eritmani tayyorlash uchun $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dan 100 g olib, 200 g konsentrlangan sulfat kislotada eritiladi va uning hajmi distillangan suv bilan 1:l ga yetkaziladi.

29. **Tirozin eritmasi.** Tirozindan 0,05 g olib, 0,1 % li soda eritmasining 50 ml da eritiladi. Eritma suv hammomida qizdirilsa, erish tezlashadi.

30. **Feling suyuqligi.** Bu ikki qism eritmada iborat bo'ladi: a) 200 g segnet tuzi 500 ml distillangan suvda eritilib, so'ngra uning ustiga 150 g natriy gidroksid qo'shib, eritma hajmi distillangan suv bilan 1:l ga yetkaziladi; b) 40 g mis sulfat tuzi 1:l distillangan suvda eritiladi. Tajribani boshlashdan oldin «a» va «b» eritmalardan teng hajmda olib, aralashtiriladi. Shu tartibda tayyorlangan eritma Feling suyuqligi vazifasini bajaradi.

31. **Folin reaktivi.** 20 g natriy valformat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) va 5 g natriy molibdat olib, 160 ml distillangan suvda eritiladi va 300—

500 ml hajmdagi kolbaga solinadi. Aralashmaga 80 % li fosfor kislotadan 10 ml va solishtirma massasi 1,19 g sm³ bo'lgan xlorid kislotadan 20 ml qo'shib, kolba og'zi sovutgich o'rnatilgan tiqin bilan berkitiladi va eritma 10 soat davomida qaynatiladi. Mo'ljalidagi vaqt tugashi bilan kolbaga 30 g litiy sulfat tuzidan, 10 ml distillangan suv va 1—2 tomchi brodo suvidan solinadi. Buning uchun kolba og'ziga sovutgich qo'ymasdan aralashma 15 daqiqa qaynatiladi. So'ngra eritmaning hajmi distillangan suv bilan 200 ml ga yetkazilib filtrlanadi. Eritma tiniq sariq rangda bo'ladi. Shu usulda tayyorlangan eritma maxsus qora shisha idishlarda yoki usti qora qog'oz bilan o'ralgan idishlarda saqlanadi. Ishlatish oldidan eritma distillangan suv bilan 1:1 nisbatda aralashtiriladi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR:

Asosiy adabiyotlar

1. Lehninger, David L. Nelson, Michail M. Cox. *Principes of Biochemistry*. New York. 2013. 1336 p.
2. Зубаиров Д.М. и др. *Руководство к лабораторным занятиям по биохимии ГЭОТАР-Медиа*, 2015.
3. Sobirova R.A. va boshqalar. *Biologik kimyo. Darslik.*–Toshkent. Ўқитувчи. 2018 й.
4. МА Яроватая, ИП Королева, ЕК Ласарева *Разработка методических указаний по "биологической химии" для студентов специальности "Фармация"*. 2018 - elibrary.ru.
5. Zdenek Svagera., Radka Sigutova. "Clinical biochemistry." Praga. 2016 y
6. Борисова Г.Г. — *Лабораторный практикум по биохимии*. М. 2017г. 80с.
7. Новиков Д.А. · *Фармацевтическая биохимия*. 2016. Минск 96с.
8. Berezov T.T., Korovkin B.F. *Biologicheskaya ximiya*, 2004.
9. Nikolaev A.YA. *Biologicheskaya ximiya*, 2004.
10. Kushmanova O.D., Ivchenko G.M. *Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po biologicheskoy ximii*. 1983.
11. Aleynikova T.L., Rubtsova G.V. *Rukovodstvok prakticheskim zanyatiyam po biologicheskoy ximii*. 1988.
12. Sultanov R.G., Xolmuxamedova N.M. *Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po biologicheskoy ximii*, 2006 (uzb).
13. Sabirova R.A. va b. *Biologik kimyo*, 2020.
14. Sovetov Q.T., Baykulov A.K. *Biologik kimyo fanidan laboratoriya mashg'ulotlari // uslubiy qo'llanma* 2021

Mundarija

Kirish	3
1-MAVZU. OQSILLARNI QURILISHI, XUSUSIYATI VA VAZIFALARI	10
Oqsil dializi	11
2-MAVZU. OQSILLAR FUNKSIYALARINING	12
FAZOVIY QURILISHIGABOG'LIQLIGI	12
Proteidlar	12
3-MAVZU. OQSILLARNING FIZIK VA KIMYOVIYXUSUSIYATLARI	14
Mineral kislotalar ta'sirida oqsillarni cho'ktirish	15
4-MAVZU. OQSILMIQDORINI BIURET USULI BILAN ANIQLASH	16
Ningidrin reaksiyasi	17
Qon zardobi umumiy oqsillar miqdorini aniqlash	18
(refraktometrik usul)	18
Neukleoproteidlar tarkibiy qismlariga sifat reaksiyalar	23
6-MAVZU. NUKLEIN KISLOTALAR BIOSINTEZI	25
7-MAVZU OQSIL BIOSINTEZI	25
Ba'zi restiriktaazalar ta'sir nuqtalari	26
8-MAVZU. FERMENTLARNING STRUKTURA FUNKSIONAL TUZILISHI. FERMENTLARNING TA'SIR ETISH MEXANIZMI. SO'LAKALFA AMILAZASI FAOLLIGINI VOLGELMUT BO'YICHA ANIQLASH	26
So'lak alfa amilazasi faolligini Volgelmut bo'yicha aniqlash	27
9-MAVZU AMILAZA FAOLLIGIGA MUHITNING (pH) T VA HARORAT A'SIRI	28
Amilaza faolligiga haroratning ta'siri	29
10-MAVZU. FERMENTLAR FAOLLIGINING BOSHQARILISHI, KLINIK ENZIMOLOGIYA	30
11-MAVZU. QON ZARDOBI VA SO'LAKDA	39
AST VA ALTFAOLLIGINI ANIQLASH	39
12-MAVZU. VITAMINLAR VA ULARNING KOFERMENTLIKVAZIFALARI. YOG'DA ERUVCHI VITAMINLAR	40
A vitamin(retinol)jiga xos sifat reaksiyalar	40
A vitaminining temir xlorid tuzi bilan reaksiyasi	41
A vitaminning sulfat kislotasi bilan reaksiyasi	41
<i>Ishning bajarilishi.</i> Ikkita probirka olib, birinchisiga 2 ml baliq yog'ining xloroformdagi 10% li eritmasi, ikknchisiga o'simlik moyining 10% li xloroformdagi eritmasidan 2 ml quyiladi. Keyin ikkala probipkaga ham 1,5-2 ml dan konsentrlangan sulfat kislotasidan solinadi. Tarkibida A vitamini bo'lgan probirkadagi aralashma oldin ko'k keyin binafsha va oxiri qizil-qo'ng'ir rangga bo'yaladi.	41

A vitaminning surma (Sb) xlorid bilan reaksiyasi.....	42
D vitamiga xos bo'lgan sifat reaksiyalari	42
D-vitaminning surma (III) xlorid bilan reaksiyasi	43
D vitaminning brom bilan reaksiyasi	43
D vitaminining anilin bilan reaksiyasi	44
12-MAVZU. SUVDA ERIYDIGAN VITAMINLAR METABOLIZMI VA BIOLOGIK FUNKSIYASI	44
I. Yog'da eriydigan vitaminlar:.....	44
II. Suvda eriydigan vitaminlar:.....	45
Ayrim suvda eruvchi vitaminlarga xos reaksiyalar. C- vitaminiga sifatli reaksiya.....	45
C vitaminining qizil qon tuzi va temir xlorid tuzi bilan reaksiyasi	46
C vitaminining 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzi bilan reaksiyasi.....	47
B guruh vitaminlariga xos sifat reaksiyalar	48
B ₁ vitaminiga xos rangli reaksiyasi	50
Riboflavinning qaytarilish reaksiyasi.....	51
13-MAVZU. OVQATLANISH BIOKIMIYOSI.	52
MODDALARALMASHINUVI	52
14-MAVZU. KATABOLIZMNING UMUMIY YO'LLARI	55
Mushak suksinatdehidrogenaza (SDG) faolligini aniqlash	56
15-MAVZU. BIOLOGIK OKSIDLANISH.	56
FOSFORLANISH VABILOGIK OKSIDLANISHNI BOSHQARILISHI.	56
Mushak tarkibidagi makroergik birikmalar	60
(ATF va kreatinfosfat) miqdorini aniqlash	60
Sitoxromoksidaza faolligini aniqlash	61
Oksidlanish va fosforillanishning 2,4-dinitrofenol ta'sirida ajratilishini o'rganish	62
16-MAVZU. KARBONSUVLAR ALMASHINUV, KARBONSUVLARNING HAZMLANISHI. GLIKOLIZ, GLIKOLIZNING AHAMIYATI, GLYUKOZA BIOSINTEZI, GLIKOLIZ VA GLYUKONEOGENIZ BOSHQARILISHI	63
To'qima va hujayralarda glukozaning doimo sarflanib turishiga va oziqlangandan so'ng ichaklardan so'rilishiga qaramay qon tarkibida glukozaning miqdori bir me'yorda saqlanadi (3,3-5,5 mmol/l, 60-100 mg/dl). Qon tarkibidagi qand miqdorining deyarli o'zgarmas miqdorda saqlanishi murakkab boshqarish mexanizmlariga asoslangan. Bu mexanizmlar markaziy nerv (MNS) va endokrin sistemasi tomonidan amalga oshiriladi. Bu o'rindajigaming faoliyati muhim ahamiyatga ega. Ayrim kasalliklarda (qandii diabet) qondagi qand miqdori me'yoridan 2-3 barobar ortadi. Bunday holatni giperglukozemiya deyiladi. Qand miqdorining me'yoridan kamayishi gipoglikemiya holati deyiladi. Qand	

miqdori o'zgariganini bilish kasallikni aniqlashda amaliy ahamiyatga ega.....	63
Glyukozaning mushak to'qimasida kislorodsiz sharoitda oksidlanishi.....	64
17-MAVZU. QONDA QAND MIQDORINI ANIQLASH.....	65
Qondagi glyukoza miqdorini antron usuli bilan aniqlash	66
Qondagi glyukoza miqdorini fermentativ usulda aniqlash	67
18-FRUKTOZA VA GALAKTOZA ALMASHINUVI, KARBINSUVLAR GORMONLAR ORQALI IDORA ETILISHI, PENTOZAFOSFAT YO'LINING AHAMIYATI, GLIKOPROTEIN VA PROTEOGLIKANLAR	68
Qondagi qand miqdorini qo'shimcha qand berganda o'zgarishini kuzatish	69
19- MAVZU. LIPIDLAR ALMASHINUVI. LIPIDLARNINGHAZMLANISHI, SO'RILISHI VA TASHILISHI	70
Qon zardobidagi umumiy lipidlarning aniqlash usuli	71
20-MAVZU. LIPAZA FAOLLIGIGA O'T KISLOTA TA'SIRI.....	71
21-MAVZU. LIPIDLAR ORALIQ ALMASHINUVI.....	74
22-MAVZU. FOSFOLIPIDLAR VA STEROIDLAR ALMASHINUVI.....	74
23- MAVZU. UMUMIY XOLESTERINNI ANIQLASH.....	76
Qon zardobi tarkibidagi umumiy xolesterinni.....	76
Ilk usuli bilan aniqlash	76
24-MAVZU. LIPIDLAR ALMASHINUVINING	76
BOSHQARILISHI VABUZILISHI	76
a) Nitroprussid (Legal) reaksiyasi.....	76
Siydikdagi atseton tanachalarini indikator qog'ozi yordamida aniqlash .	78
25-MAVZU. OQSILLAR ALMASHINUVI, OQSILLARNINGXAZMLANISHI VA SO'RILISHI	78
Me'da shirasi kislotaliligini aniqlash	79
Me'da shirasi kislotaliklarini aniqlash	79
Me'da shirasi patologik komponentlarini aniqlash	82
Me'da shirasi tarkibidagi qonni benzidin	82
reaksiyasi bilan aniqlash	82
26-MAVZU. AMINOKISLOTALAR ALMASHINUVINING	83
UMUMIYYO'LLARI	83
27-MAVZU. QONDA QOLDIQ AZOTNI ANIQLASH.....	83
Siydikda siydikchil miqdorini aniqlash	85
29-MAVZU. BIOGEN AMINLARNING VAZIFALARI. AMMIKNIHOSIL BO'LISHI VA ZARARSIZLANTIRISH YO'LLARI	86
Adrenalinni yod bilan reaksiyasi.....	86
Adrenalinni temir xlorid bilan reaksiyasi.....	86
30-MAVZU. ALOHIDA AMINOKISLOTALAR ALMASHINUVI	86
Aminokislotalarga tirazinaza ta'sirini o'rganish	91

31-MAVZU. NUKLEIN KISLOTALAR ALMASHINUVI	91
DNK miqdorini kolorimetrik usulda aniqlash	97
32-MAVZU. MODDALAR ALMASHINUVI VA FUNKSIYALARINI GORMONLAR ORQALI BOSHQARILISHI.	97
Qon tarkibidagi glyukoza miqdorining o'rta shiga adrenalinning ta'siri ...	99
Insulin gormoniga xos reaksiyalar	100
Insulinni natriy ishqori bilan reaksiyasi	102
Insulinni oqsil tabiatli modda ekanligini ko'rsatuvchi Biyuret reyksiyasi	103
Qon tarkibidagi glyukoza miqdoriga insulinning ta'siri	103
Tireoidin tarkibidagi yodni aniqlash	104
Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlarga sifat reaksiya	104
Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlar miqdorini aniqlash	104
33-MAVZU. QON BIOKIMYOSI.	107
GEM METABOLIZMI VA TEMIRALMASHINUVI	107
Qon zardobi tarkibidagi temirni miqdorini aniqlash	110
34-BIRIKTIRUVCHI TO'QIMA BIOKIMYOSI.	111
MUSHAK BIOKIMYOSI	111
Siydikda oksiprolinni aniqlash	111
35-MAVZU. KALSIY VA FOSFOR METABOLIZMI. MIKROELEMENTLAR. TISH QATTIQ TO'QIMA BIOKIMYOSI.	112
Biologik suyuqliklarda kalsiyni aniqlash	112
36-MAVZU. SO'LAKNING FIZIK-KIMYOVIY XOSSALARI	113
Ishning borishi	113
Ishning borishi.	114
Ishning borishi.	114
Ishning borishi.	114
G) Amilaza faolligiga haroratning, muhitning va ingibitorlarning ta'sirini o'rganish.	114
Ishning borishi.	114
ILOVA	116
FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR:	122

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIV TA'LIM FAN VA INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI
SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI
SAMARQAND DAVLAT TIBBIYOT UNIVERSITETI**

Q.T. Sovetov, A. K. Baykulov, M.U. Djalilov

BIOLOGIK KIMYO
fanidan laboratoriya mashg'ulotlari
(stomatologiya (5510400- stomatologiya)
fakulteti talabalari uchun)

O'QUV QO'LLANMA

"Bilig-ilmiy faoliyat" nashriyoti

Muharrir: Fayzullayeva G.
Texnik muharrir: Xujakulov Sh.
Nashrga tayyorlovchi: Abdullayev F.



№ 098355

ISBN: 978-9910-9974-5-7

**"Bilig ilmiy faoliyat" nashriyoti, Joylashgan mazili Samarqand viloyati, Samarqand shahar,
Zavod ko'chasi 9-uy, 10-xona. Faoliyat manzili Samarqand viloyati,
Samarqand shahar, X.Obiddinov ko'chasi 7-uy.
tel.: +998 97-925-97-91**

Terishga berildi: 14.10.2023-yil. Boshiga ruxsat etildi: 01.11.2023-yil.
Bichimi 60x84^{1/16}, "Times New Roman" garniturasida.
Bosma tabog'i 7,75. Adadi 100 nusxa. Buyurtma № 2023/ UQ 25
Bahosi kelishilgan narxda. Noshirlik litsenziyasi: № 098355
Samarqand viloyati pedagoglarni yangi metodikalarga o'rgatish
milliy markazi bosmaxonasida nashr etildi

ISBN 978-9910-9974-5-7



9 789910 997457