

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O‘RTA
MAXSUS TA‘LIM VAZIRLIGI**

SAMARQAND DAVLAT UNIVERSITETI

BIOLOGIYA FAKULTETI

**ODAM VA HAYVONLAR FIZIOLOGIYASI VA
BIOKIMYO KAFEDRASI**

RO‘YXATGA OLINDI

№ _____
2019 y “ ____ ” _____

«TASDIQLAYMAN»

Samarqand davlat universiteti
o‘quv ishlari bo‘yicha prorektori:
_____ prof. A.Soleev
_____ 2019 y

BILIM SOHASI: 100000 – GUMANITAR SOHA
TA‘LIM SOHASI: 140000 – TABIIY FANLAR
TA‘LIM YO‘NALISHI: 5140100 – BIOLOGIYA

“ENZIMOLOGIYA” fanidan

**O‘QUV-USLUBIY
MAJMUUA**

Tuzuvchi:

SamDU Biologiya fakulteti, Odam va hayvonlar
fiziologiyasi va biokimyo kafedrasida dotsenti
Dots. M. G. Safin., ass. D.G‘. Hayitov

SAMARQAND – 2019

MUNDARIJA:

SILLABUS (YO‘NALISHNING NAMUNAVIY VA ISHCHI O‘QUV REJASI, FANNING NAMUNAVIY VA ISHCHI O‘QUV DASTURI).....	3
O‘TILAYOTGAN FANNING ASOSIY NAZARIY MATERIALI (MA‘RUZALAR MATNI)	33
GLOSSARIY	91
FOYDALANILGAN MATERIALNING XORIJIY TILDAGI NUSXASI....	94
MAVZULAR BO‘YICHA TAQDIMOTLAR, MUSTAQIL TA‘LIM UCHUN MATERIALLAR (ILMIY MAQOLALAR).....	97
AMALIYOT MASHG‘ULOTLARI MATERIALLARI	99
QO‘SHIMCHA MATERIALLAR (VIDEOLAR, KEYS-RTADILAR)	159

Fanning o'quv-uslubiy majmuasi «Biokimyo va molekulyar biologiya» fanining fan dasturiga muvofiq ishlab chiqilgan.

Tuzuvchilar: SamDU Biologiya fakulteti, Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyosi kafedrasida dotsentlari
M.G.Safin

“Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyo” kafedrasining mudiri: dots. M.S. Kuziyev

Fakultet o'quv-uslubiy kengashining raisi: dots. N.A. Allanazarova

Fakultet ilmiy kengashi raisi: dots. X.O. Keldiyorov

O'quv-uslubiy majmua Biologiya fakultetining ilmiy kengashida ko'rib chiqilgan va foydalanishga tavsiya qilingan (2019 yil 03.07 dagi 10 sonli majlis bayonnomasi).

O'quv-uslubiy boshqarma boshlig'i: dots. B.S.
Aliqulov

**SILLABUS (YO‘NALISHNING
NAMUNAVIY VA ISHCHI O‘QUV
REJASI, FANNING NAMUNAVIY VA
ISHCHI O‘QUV DASTURI)**

Umumiy ma'lumotlar

1	OTM	SamDU	Manzili: Unisersitet xiyoboni, 5
2	Fakultet	Biologiya fakulteti	Manzili: Biologiya bo`limi binosi
3	Kafedra	Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyo	Manzili: Biologiya binosi, 108- xona
4	Bilim va ta'lim sohasi	Bilim sohasi: 100000 – gumanitar soha	Ta'lim sohasi: 140000 – Tabiiy fanlar
5	Ta'lim yo'nalishi, kurs, guruh	5140100 – biologiya	3-курс, 301, 302, 303, 304 – guruhlar
6	Fan (o'quv soatlari)	Biometriya	O'quv soatlari: ma'ruza – 36 soat amaliy mashg'ulot – 36 soat seminar -36 mustaqil ish – 52 soat
7	Kursning davomiyligi	6 – semestr	03.02.2019 – 01.06.2020
8	O'qituvchi (lavozimi, unvoni, elektron pochta)	Ma'ruza o'qituvchisi: M.G. Safin D.G. Hayitov	Dotsent, e-mail: d.hayitov@mail.ru
		Amaliyot o'qituvchisi: Xaydarov S.S.	Dotsent, e-mail: d.hayitov@mail.ru
9	Dars joyi va vaqti	Ma'ruza	Biologiya binosi, 1 – qavat, 112 aud.
		Amaliy mashg'ulot	Biologiya binosi, 1 – qavat, 111-113 – aud.
10	Konsultatsiya joyi va vaqti	Ma'ruza	Biologiya binosi, biokimyo laboratoriyasi, payshanba
		Amaliy mashg'ulot	Biologiya binosi, biokimyo laboratoriyasi, juma
11	Shaxsiy grafik asosida ishlash vaqti	ARM o'quv zali	Dushanba, chorshanba, shanba kunlari, 17.00 dan 18.00 gacha

Asosiy ma'lumotlar

1	Fanning dolzarbligi va qisqacha mazmuni	<p>Hozirgi kunda zamonaviy texnologiyaning jadal rivojlanishi natijasida turli murakkab jarayonlarni, iqtisodiy masalalarni jumladan, biologiyadagi muammolarni o'rganish, ularni matematik-stoxastik nuqtai nazardan tasavur qilish, modellarini tuzish va yechish nafaqat nazariy jihatdan, balkim tadbiqiy jihatdan ham dolzarb, ham amaliy ahamiyatga ega bo'lgan muammolardan biri hisoblanadi.</p> <p>Shuning uchun «Biometriya» kursi matematikaning eng muhim yo'nalishlaridan biri bo'lgan matematik statistika asoslari bilan bog'liq ravishda tuzilgandir.</p>
2	Fanning maqsad va vazifalari	<p>Fanni o'qitishdan maqsad – talabalarda nazariy ehtimollik intuisiyani, ya'ni amalda uchraydigan statistik tajribalardagi tasodifiy xodisalarni aks ettiruvchi matematik modellarni tuzishni uddalay olish va uni taxlil eta bilish qobiliyatini rivojlantirishdan iborat.</p> <p>Fanning vazifalari – Biometriy fani matematik fanlarning ko'pgina bo'limlari asosini tashkil qiladi. Klassik statistika jarayonlarini aniq tasavvur qilish, bu jarayonlarning matematik modelini tuzish va yechimlarini topish metodlarini o'rganish, yechimlarni matematik tahlil qilish bu fanining asosiy vazifasiga kiradi.</p>
3	Fanning o'quv rejadagi fanlar bilan aloqasi	<p>Biometriya fani oliy matematika, informatika va axborot texnologiyalari, variasion hisob va optimallashtirishning matematik usullari va ehtimollar nazariyasi fanlari bilan uzviy bog'liq va ushbu fanlarni bilish zarur.</p>
4	El. pochta va boshqa elektron vositalar orqali aloqa tartibi	<p>O'qituvchi va talaba o'rtasidagi aloqa elektron pochta orqali ham amalga oshirilishi mumkin. Elektron pochta ochish vaqti soat 17.00 dan 18.00 gacha. Baholash masalasi elektron pochta yoki telefon orqali muhokama qilinmaydi. Baholash faqat universitet hududida, belgilangan xona va belgilangan vaqtda hamda dars davomida (JN) amalga oshiriladi.</p>
5	Talaba uchun asosiy talablar	<p>universitet ichki tartib-qoidalariga va kiyinish madaniyatiga rioya qilish;</p> <p>darslarga kechikib kelmaslik va sababsiz qoldirmaslik, qoldirilgan darslarni muddatida qayta o'zlashtirish;</p> <p>uyali telefonni dars va nazoratlar paytida o'chirib qo'yish ;</p> <p>darslarga tayyorlanib kelish va faol ishtirok etish;</p> <p>ma'ruza, amaliy mashg'ulot, mustaqil ish va uy vazifasi uchun alohida daftar tutish va talab darajasida yuritish;</p> <p>berilgan uy vazifasi, mustaqil ish va boshqa topshiriqlarni o'z vaqtida sifatli bajarish;</p>

	<p>nazoratlarga puxta tayyorgarlik ko‘rib kelish va etarli ball to‘plamagan holda takroriy nazoratlarni belgilangan muddatlarda topshirish;</p> <p>nazorat paytlarida ko‘chirmachilik (plagiat) qilmaslik va ushbu holat ro‘y berganda nazoratdan chetlashtirilishini e‘tiborda tutish;</p> <p>qo‘yilgan balga e‘tirozi bo‘lsa, ball e‘lon qilingandan keyin bir kun mobaynida o‘qituvchi, kafedra mudiri yoki dekanga (yakuniy nazoratlar bo‘yicha apelyasiya komissiyasiga) murojaat qilish;</p> <p>dars paytida va undan tashqarida o‘qituvchi va boshqalarga nisbatan odob-axloq doirasida hurmat bilan munosabatda bo‘lish.</p>
--	--

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
3.12	Биология	180		108	44	20	28	16		72						6		
3.13	Экология табиғату	120		72	32			40		48							8	
3.14	Умумий психология	120		72	36			36		48				4				
3.15	Умумий педагогика	120		72	36			36		48						4		
3.16	Биология Умумий методикаси	120		72	24	32		16		48						4		
3.17	Ёш физиологияси ва гигиена	60		36	18	18				24			2					
	Тиллар фанлари	478		272	96	78		78		608					6			77
4.00	Иттиқоқ фанлари	819	12	492	246	96		150		327				2	4	16	20	
4.01	Телевизио асослари	120		72	36			36		48				2	2			
4.02	Информацион турлар билан алоқа	120		72	36	36				48						2	4	
4.03	Интернет асослари	100		60	30	30				40							4	2
4.04	Билансда фикр-катоъий таълимий усуллари	100		60	30	30				40							4	2
	Тиллар фанлари	379		228	174			774		357							4	16
5.00	Қўшмача фанлар	486	6	276	108	108				234						6	6	
	Жами	6966		4178	1614	1346	618	608	3 км	2838	31	31	32	32	32	32	32	32
	Малакавий ва педагогик амалиёт	1680																
	Битирув малакавий иши	324																
	Аттестациялар	972																
	Жами	2376																
	ҲАММАСИ	9342																

Иш:

1. Олий таълим муассасаси иттиқоқ фанларининг дастуридаги янгиб-чиқириқ кадрлар буюртмачиларининг талабларини эътиборга олиди.
2. Хоржий табиғатий машғулотири қўшмача фанлар бўлигини соғлири ҳисобига, хоржий йилии ҳақ тўлаи вақти ҳисобига ўтказилади. Хоржий табиғатий машғулотири ўтказилайлаған қолларда уяғу бўлсади ишнинг боғори ва кадрлар буюртмачиларининг талабларига мослашуидағи ва харакатчиларини таълимиларни фанлар учун ОТМ Қўшмачағи харори бўлиа фойдаланилади.
3. Усув реваи асосида олий таълим муассасаси хар йили ишчи Усув реваиини тузили. Буниа олий таълим муассасасига талабалар қўшмачағи харакатий қўшмачағи сақлаған қолли усув фанлари бўлиа қўшмачағи 5 фангағи, бўлиади тарбиядағи фанлар қўшмачағи 10 фангағи уяғуларни қўшмачағи бўлиади.
4. Битирув малакавий ишени бақариға муддигари тарбияға уни қўшмачағи қўшмачағи хар қўшмачағи.
5. Хоржий тил фанларининг соғлири 7-8-семестрларда битирувни курслар учун қўшмачағи фанлар бўлиа ва тақвим фанлари соғлири ҳисобилади хар қағида 2 соғида "Хоржий тил" фани ўқитилади.
6. "Жисмоний малакавий фани тарбияди "Валеология асослари" курсиди 10 соғи ҳақмади иштурув, 8 соғи ҳақмади амалий машғулоти ўқитилади қўшмачағи.
7. Усув реваи қўшмачағи ишчиларини оқ фанларининг амалий машғулотири ва лаборатория амалири олий таълим муассасаси ҳақмади бўлиади таълимилар ва қўшмачағида ўтказилади.
8. Ишчи ва амалиёт қўшмачағи таълимиларни учун талабаларининг малакавий амалиётлари бўлиади таълимилар ва қўшмачағида ўтказилади.

Усув жарайинининг тарбияий қўшмачағи	Қағидағи соғи	Семестр	Давлат аттестацияси
Ишчи таълим	129	1-8	1. Гушмачағи ва қўшмачағи-ишчиларининг фанларининг
Малакавий ва педагогик амалиёт	20	2,4,6,7	2. Хоржий тил
Аттестациялар	16+2(Д)	1-8	3. Битирув малакавий ишени қўшмачағи қўшмачағи
Битирув малакавий иши	6	8	
Таълимилар	31	1-8	
Жами	204		

Янги дастури ва усув амалиётларининг янги таълимиларни қўшмачағи қўшмачағи қўшмачағи

О.Новақов

Малакавий ва педагогик амалиёт қўшмачағи

О.Бақиров

ОУ МАХТМ директори

Б.Рақов

УМУ ректори

А.Маратқов

Кадрлар буюртмачиси:

УФ ФА Ишчи ва амалиёт институти директори

К.Тоқоғи

Ўзбекистон Республикаси Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг Олий ва ўрта махсус, касб-сўнар таълим институти буюнча усув-усулий барлашлар факультети Мундоқимлашуви қўшмачағи машғулотири

2017 йил 18.08 дағи 4 - соғи бақариға

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O'RTA
MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI

SAMARQAND DAVLAT UNIVERSITETI

Ro'yxatga olindi:

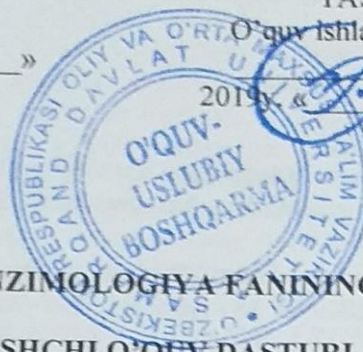
№ 449

2019 y. « _____ » « _____ »

“TASDIQLAYMAN”

O'quv ishlarini bo'yicha prorektor
prof. A. Soleyev

2019 y. « _____ » « _____ »



ENZIMOLOGIYA FANINING

ISHCHI O'QUV DASTURI

Bilim sohasi: 100000 - Gumanitar soha

Ta'lim sohasi: 140000 - Tabiiy fanlar

Ta'lim yo'nalishi: 5140100 – Biologiya (3-курс)

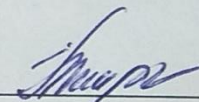
Samarqand – 2019

Fanning ishchi o'quv dasturi o'quv, ishchi o'quv reja va o'quv dasturiga muvofiq ishlab chiqildi.

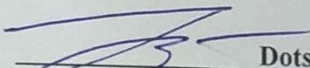
Tuzuvchilar: Dots. M.G. Safin, ass. D.G'.Hayitov- SamDU Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyo kafedrasining a'zolari

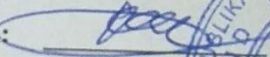
Taqrizchi: M.A. Ismoiliva – SamDU Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyo kafedrasining dotsenti:

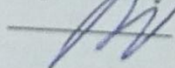
Fanning ishchi o'quv dasturi "Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyo" kafedrasining 2019 yil 18 - iyundagi №15- son yig'ilishida muhokamadan o'tgan

Kafedra mudiri:  Dots. M.S. Kuziyev

Fanning ishchi o'quv dasturi "Biologiya" fakultetining o'quv-uslubiy kengashida muhokama etilgan va foydalanishga tavsiya qilingan (2019 yil 20-iyundagi 10-sonli bayonnoma).

Fakultet o'quv-uslubiy kengashi raisi:  Dots. N.A. Allanazarova

Ilmiy kengash raisi:  Dots. X.O. Keldiyorov

Kelishildi:
O'quv uslubiy boshqarma boshlig'i
 Dots. B.S. Aliqulov

Kirish

Ushbu dastur Enzimologiya asoslari fani predmeti, tarixi, maqsadi va vazifalari; fanning tadqiqot uslublari, uning biologiya fanlari bilan o'zaro bog'liqligi; hozirgi zamon enzimologiyasining asosiy metodologik aspektlari; fanning ishlab chiqarish va ekologik muammolarni echishdagi o'rni; fanning nazorat turlari va baholash mezonlari; enzimologiyaning biologiyadan mutaxassis tayyorlashdagi o'rni kabi masalalarni qamraydi.

O'quv fanining maqsadi va vazifalari.

Enzimologiya asoslari maxsus kursini o'qitishdan maqsad talabalarga fermentlarning tirik organizmdagi bajaradigan muhim funksiyalarini, yuqori biologik aktivlikka ega bo'lgan oqsil tabiiatli moddalarni va ularning ahamiyatini tushuntirish.

Fermentlar kimyoviy birikmalarni aktivlash xususiyatiga ega bo'lib, hayot faoliyatining muhim jarayoni hisoblangan irsiy axborotni tashilishi bioenergetika biomolekulalarning sintezi va parchalanishida ishtirok etadi. SHunga ko'ra eksperimental biologiyaning u yoki bu sohasida ishlayotgan biolog zamonaviy enzimologiya bilimlari bilan qurollangan bo'lishi shart. SHunga asosan enzimologiyani o'rganishda ayrim zamonaviy usullar bilan tanishish zarur.

Fan bo'yicha talabalarning bilimiga, ko'nikma va malakasiga qo'yiladigan talablar.

Enzimologiya o'quv fanini o'zlashtirish jarayonida amalga oshiriladigan masalalar doirasi magistrlar:

- asosiy ilmiy va ilmiy-texnik muammolar;
- fan va texnika rivojlanish istiqbollari va ularning fanlararo aloqalari;
- biologik kataliz asoslari;
- biologik jarayon va hodisalarni ilmiy tekshirish usullari xaqida va ularni biologiyaning aniq mutaxassislik yo'nalishlarida qo'llanilishi;
- biopolimerlarning tuzilishi va xossalari;
- tirik organizmlarda genetik axborotning berilish yo'llari haqida tasavvurga ega bo'lishi;
- enzimologiya sohasida hamda amaliy masalalarda nazariy bilimlarni keng qo'llay bilishni;
- enzimologiya yo'nalishida ilmiy va amaliy masalalar echishning usullarini qo'llashni;
- maxsus tayergarlik soxalari bilan bog'langan asosiy ob'ektlar, hodisalar va jarayonlarni;
- xujayra va gen muhandisligida fermentlarning rolini bilishi va ulardan foydalana olishi;
- qo'yilgan masalani echishda mos usulni qo'llay bilish;
- aniq ilmiy, ilmiy-texnologik vazifani echishni amalga oshirishda asbob-uskunalarni tanlash;

- axborot texnologiyasining so‘ngi zamonaviy yutuqlarini qo‘llab natijalarni qayta ishlash va xisoblash;
- jahon tajribasi va jahon adabiyoti ma’lumotlari asosida olingan natijalarni tahlil qilish;
- enzimologiyaning ba’zi sohalarida yangi tashhisiy usullarini o‘rganish;
- molekulyar kasalliklarning fermentlarga bog‘likligi va ularni davolash usullarini aniqlash ko‘nikmalariga ega bo‘lishi kerak.

Fanning o‘quv rejadagi boshqa fanlar bilan o‘zaro bog‘liqligi va uslubiy jihatdan uzviy ketma-ketligi

Enzimologiya asoslari fani asosiy qo‘shimcha fani hisoblanadi. Dasturni amalga oshirish o‘quv rejasida rejalashtirilgan matematik va tabiiy (oliy matematika, informatika va axborot texnologiyalari, biometriya, fizika, anorganik va analitik kimyo, organik kimyo va fizik va kolloid kimyo), umumkasbiy (mikrobiologiya, genetika, sitologiya va individul rivojlanish biologiyasi) fanlardan etarli bilim va ko‘nikmalarga ega bo‘lishlik talab etiladi.

Fanning ishlab chiqarishdagi o‘rni

Enzimologiya asoslari asosan tibbiyotning ajralmas qismi hisoblanadi. SHunday ekan tibbiyotdagi tashxiz qshyish masalasi ham biokimyo bilan uzviy bog‘liq. Bu soxada biokimyoviy ko‘rsatkichlarni bilish zarur masala hisoblanadi. SHuning uchun ushbu fan asosiy ixtisoslik fani hisoblanib, ishlab chiqarish texnologik tizimining ajralmas bo‘g‘inidir.

Fanni o‘qitishda zamonaviy axborot va pedagogik texnologiyalar

Magistrlarning Enzimologiya fanini o‘zlashtirishlari uchun o‘qitishning ilg‘or va zamonaviy usullaridan foydalanish, yangi informatsion-pedagogik texnologiyalarni tadbiq qilish muhim ahamiyatga egadir. Fanni o‘zlashtirishda darslik, o‘quv va uslubiy qo‘llanmalar, ma’ruza matnlari, tarqatma materiallar, elektron materiallar foydalaniladi. Fanning o‘qitish turlari dasturda ko‘rsatilgan mavzular, amaliy mashg‘ulotlar shaklida olib boriladi. SHuningdek atroflicha bilim olishni ta’minlash maqsadida talabalarga mustaqil ish mavzulari ham beriladi. Fanni zamonaviy pedagogik uslublar – “Klaster”, “Bumerang”, tarzida o‘tish ham ko‘zda tutilgandir. Ma’lumotlar ko‘rgazmali o‘quv qurollari, kodoskop, multimedialar yordamida olib boriladi. Ma’ruza, amaliy va laboratoriya darslarida mos ravishdagi ilg‘or pedagogik texnologiyalardan foydalaniladi.

ASOSIY QISM

KIRISH

Fermentlar haqidagi bilimlarning qisqacha rivojlanish tarixi. Moddalarning biokatalizi va evolyusiyasi. Enzimologiyaning vazifalari. Fermentlarning ilmiy va amaliy fiziologiyasi. Biotexnologiyadagi zamonaviy yoʻnalishlari va fermentlar biotexnologiyasi.

Fermentlar haqida tushuncha

Oqsillarning struktura tuzilishi. Fermentlar oqsilga xos barcha xususiyatlarga ega. Fermentlarning aktivlanish markazi. Allosterik fermentlar-allosterik markaz.

Koenzim va boshqa kofaktorlar. Fermentlarni ajratish va tozalash usullari.

Aktivlik haqida tushuncha. Aktivlikni aniqlash uslubi va turlari. Ferment birligi, fermentlarning tozalik darajasini tekshirish.

Fermentlar nomenklaturasi va klassifikatsiyasi.

Klasifikatsiya qilishning baʼzi pritsiplari. Fermentlarning baʼzi vakillari.

Fermentativ reaksiyalar kinetika

Fermentativ reaksiyalar kinetikasi. Aktivlanish energiyasining pasayishi. Ferment aktivligini belgilovchi asosiy faktorlar.

Fermentlar aktivligiga temperatura va muhit rN koʻrsatgichini taʼsiri.

Enzim-substrat kompleksi. Uning hosil boʻlishi haqida fizikaviy tassavur va ximiyaviy taxlil. Mixaelis-Xoldeyn-Brigs tenglamasi. Mixaelis konstantasini aniqlash. Layniuver-Bergning ikkilamchi qarama-qarshi koordinatlar uslubi boʻyicha xisoblashning grafik usuli.

Fermentlar aktivligiga ingibitor va aktivatorlarning taʼsiri. Ingibirlash turlari.

Fermentlar spetsifikligi. Absolyut, nisbiy, gruppaviy va sterioximiyaviy spetsifiklik.

Fermentlarning taʼsir qilish mexanizmi

Fermentlarning taʼsir qilish mexanizmi. Fermentlarning taʼsir qilish mexanizmining asosiy qonuniyatlari. Ferment-substrat komplekslari hosil boʻlishini oʻrganish uslublari. Fermentlar katalitik effektivligini aniqlovchi faktorlar.

Fermentlar aktivligini boshqarilishi

Fermentlarning hujayradagi joylashuvi. Fermentlar aktivligini boshqarilishi, ferment miqdorini oʻrganish va ularning ximiyaviy modifikatsiyalari.

Qaytar bogʻ prinsipi boʻyicha aktivlikning boshqarilishi va uning boshqa tiplari.

Fermentlarning qoʻllanilishi.

Immobillangan fermentlar. Enzimologiya muxandisligi. Tibbiyot enzimologiyasining muammolari.

Amaliy mashgʻulotlarni tashkil etish boʻyicha tavsiya va koʻrsatmalar:

Mazkur kurs boʻyicha olib boriladigan amaliy mashgʻulotlar maʼruza mavzulari asosida tuzilgan boʻlib, oʻtiladigan fanni xar tomonlama oʻzlashtirishga yordam beradi. Amaliy mashgʻulot darslarida talaba berilgan amaliy ishlarni mustaqil metodik

ko'rsatmalar asosida bajaradi. Bunda enzimologiya fanining bo'limlari alohida amaliy ishlar bilan yoritilgan bo'lib, har bir bo'lim chuqur o'rganib chiqiladi.

Amaliy mashg'ulotlarga tavsiya etiladigan mavzular:

1. Geksokinaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash..
2. Glikogenfosforilaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
3. Glyukozafosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
4. Aldolaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
5. Triozofosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
6. D-glitseraldegid-3-fosfatdehidrogenaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
7. Fosfoglitsitserokinaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
8. Fermentlar aktivligiga ingibitorlar ta'sirini aniqlash
9. Fermentlar aktivligiga aktivatorlar ta'sirini aniqlash

Izoh: Fan ishchi dasturini shakllantirish jarayonida o'quv rejaga mos ravishda va kafedra imkoniyatlaridan kelib chiqib, o'tkaziladi.

Mustaqil ishni tashkil etishning shakli va mazmuni

Mazkur kurs bo'yicha bajariladigan ma'ruza mavzulari asosida tuzilgan bo'lib, o'tiladigan fanni xar tomonlama o'zlashtirishga yordam beradi. Mustaqil ishi darslarda talabaga berilgan kurs ishi mavzularini mustaqil metodik ko'rsatmalar asosida bajaradi. Bunda Enzimologiya fanining bo'limlari alohida kurs ishi mavzulari bilan yoritilgan bo'lib, har bir bo'lim chuqur o'rganib chiqiladi.

Magistr mustaqil ishni tayyorlashda fanning xususiyatlarini hisobga olgan holda, quyidagi shakllardan foydalanish tavsiya etiladi:

- Amaliy mashg'ulotlarga tayyorgarlik;
- Darslik va o'quv qo'llanmalar bo'yicha fan boblari va mavzularini o'rganish;
- Tarqatma material bo'yicha ma'ruza qismini o'zlashtirish;
- Maxsus adabiyotlar bo'yicha fan bo'limlarini yoki mavzulari ustida ishlash.

Mustaqil ish uchun quyidagi topshiriqlarni bajarish tavsiya etiladi:

1. O'zbekiston biokimyogar olimlarining enzimologiya taraqqiyotiga qo'shgan hissalari.
2. Fermentlar aktivligini aniqlash usullari.
3. Fermentlarning moddalar almashinuvi jarayonidagi roli.
4. Fermentlarning nomenklaturasi va klassifikatsiyasi
5. Fermentlarning mikroorganizmlar metabolizmidagi urning roli.
6. Fermentlar biosintezini buzilishi oqibatidagi odam organizmining xastaliklari.
7. Kofermentlik xususiyatlarga ega bo'lgan vitaminlar.

8. Fermentlarning ta'sir qilish mexanizmining asosiy qonuniyatlari.
9. Fermentlar katalitik effektivligini aniqlovchi faktorlar.
10. Fermentlarning hujayradagi joylashuvi.
11. Fermentativ reaksiyalar kinetikasi.
12. Fermentlar aktivligiga ingibitor va aktivatorlarning ta'siri.
13. Imobillangan fermentlar.
14. Enzimologiya muxandisligi.
15. Tibbiyot enzimologiyasining muammolari.
16. Mixaelis-Xoldeyn-Brigs tenglamasi. Mixaelis konstantasini aniqlash.
17. Lipaza fermentining aktivligiga ingibitorlarning ta'siri.
18. Fosfolipazalar va ularning ta'sir qilish mexanizmi.
19. Mikroorganizmlar fitazasining ba'zibir hususiyatlari.
20. Biotexnologiyadagi zamonaviy yo'nalishlari va fermentlar biotexnologiyasi.
21. Fermentlar aktivligini aniqlash uslubi va turlari.
22. Fermentlar etishmovchiligidan kelib chiqadigan patologik xolatlar.
23. Fermentlar aktivliligini boshqarilishi.
24. Ferment birligi, fermentlarning tozalik darajasini tekshirish.

Izoh: Fan ishchi dasturini shakllantirish jarayonida o'quv rejaga mos ravishda va kafedra imkoniyatlaridan kelib chiqib, o'tkaziladi.

Dasturning informatsion - uslubiy ta'minoti

Dasturdagi mavzularni o'tishda ta'limning zamonaviy metodlaridan keng foydalanish, o'quv jarayonini yangi pedagogik texnologiyalar asosida tashkil etish samarali natija beradi. Bu borada zamonaviy pedagogik texnologiyalarning "Muammoli ta'lim" texnologiyasining "Munozarali dars" metodidan foydalanish nazarda tutiladi.

Izoh: informatsion ta'minot vazifasini darslik, o'quv qo'llanma va boshqa o'quv adabiyotlar, dissertatsiyalar, elektron adabiyotlar, internet ma'lumotlari bajaradi.

Foydalanilgan darslik va o'quv qo'llanmalari ro'yhati

Asosiy

1. Тўрақулов Ё.Х. Биохимия. Т. 1996.
2. Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия. М. 2000.
3. Валихонов М.Н.. Биокимё. Тошкент. Университет, 2009.
4. Филипович Ю. Основы биохимии. М., ФЛИНТА, 1999.
5. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. Москва. «Высшая школа» 2000.
6. Березов Т. Биологическая химия. М. 2000.
7. Северин Е.С. Биохимия. М., ГЕОТАР-МЕД, 2004

Qo'shimcha

1. Уайт т др. Основы биохимии. М.1991.
2. Диксон и Уэб. Ферменты. М. 1985. 3-х томник.
3. Кретович В.Л. Введение в энзимологию. М. 1989.
4. Ленинджер. Основы биохимии. М. 1985. 1 т.
5. Игамназаров Р.П., Абдуллаева М.М., Умарова Г.Б.. Биокимёвий тадқиқот услублари. Тошкент. 2003й.
6. Олий таълим жараёнида замонавий педагогик технология асосида ўқув
7. фаолиятини ташкил этиш услуб ва воситалари. Тошкент Давлат Техника университети. Тошкент. 2007 йил.
8. Фандан ЎУМ. Т.2011

Internet resurslari

1. www.ziyonet.uz
2. www.maik.ru
3. www.pedagog.uz

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O'RTA
MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI

SAMARQAND DAVLAT UNIVERSITETI

Ro'yxatga olindi:

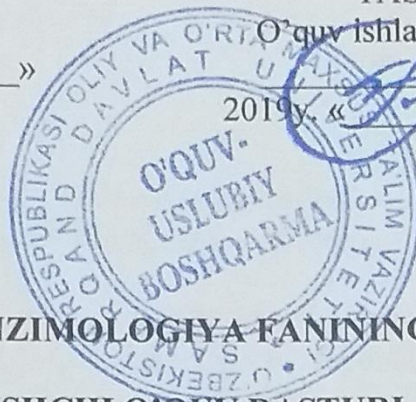
№ 449

2019 y. « _____ » « _____ »

“TASDIQLAYMAN”

O'quv ishlari bo'yicha prorektor
prof. A. Soleyev

2019 y. « _____ » « _____ »



ENZIMOLOGIYA FANINING
ISHCHI O'QUV DASTURI

Bilim sohasi: 100000 - Gumanitar soha

Ta'lim sohasi: 140000 - Tabiiy fanlar

Ta'lim yo'nalishi: 5140100 – Biologiya (3-kypc)

Samarqand – 2019

Fanning ishchi o'quv dasturi o'quv, ishchi o'quv reja va o'quv dasturiga muvofiq ishlab chiqildi.

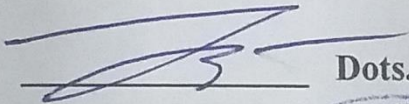
Tuzuvchilar: Dots. M.G. Safin, ass. D.G'.Hayitov- SamDU Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyo kafedrasining a'zolari

Taqrizchi: M.A. Ismoiliva – SamDU Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyo kafedrasining dotsenti:

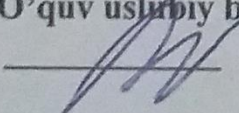
Fanning ishchi o'quv dasturi "Odam va hayvonlar fiziologiyasi va biokimyo" kafedrasining 2019 yil 18 - iyundagi №15- son yig'ilishida muhokamadan o'tgan

Kafedra mudiri:  Dots. M.S. Kuziyev

Fanning ishchi o'quv dasturi "Biologiya" fakultetining o'quv-uslubiy kengashida muhokama etilgan va foydalanishga tavsiya qilingan (2019 yil 20 iyundagi 10-sonli bayonnoma).

Fakultet o'quv-uslubiy kengashi raisi:  Dots. N.A. Allanazarova

Ilmiy kengash raisi:  Dots. X.O. Keldiyorov

Kelishildi:
O'quv uslubiy boshqarma boshlig'i
 Dots. B.S. Aliqulov

Kirish

Ushbu ishchi o`quv dastur Enzimologiya fani predmeti, tarixi, maqsadi va vazifalari; fanning tadqiqot uslublari, uning biologiya fanlari bilan o`zaro bog`liqligi; hozirgi zamon enzimologiyasining asosiy metodologik aspektlari; fanning ishlab chiqarish va ekologik muammolarni yechishdagi o`rni; fanning nazorat turlari va baholash mezonlari; enzimologiyaning biologiyadan mutaxassis tayyorlashdagi o`rni kabi masalalarni qamraydi.

O`quv fanning maqsad va vazifalari

Enzimologiya maxsus kursini o`qitishdan maqsad talabalarga fermentlarning tirik organizmdagi bajaradigan muhim funksiyalarini, yuqori biologik aktivlikka ega bo`lgan oqsil tabiiatli moddalarni va ularning ahamiyatini tushuntirish. Fermentlar kimyoviy birikmalarni aktivlash xususiyatiga ega bo`lib, hayot faoliyatining muhim jarayoni hisoblangan irsiy axborotni tashilishi bioenergetika biomolekulalarning sintezi va parchalanishida ishtirok etadi. Shunga ko`ra eksperimental biologiyaning u yoki bu sohasida ishlayotgan biolog zamonaviy enzimologiya bilimlari bilan qurollangan bo`lishi shart. Shunga asosan enzimologiyani o`rganishda ayrim zamonaviy usullar bilan tanishish zarur.

Fan bo`yicha talabalarning bilim, malaka va ko`nikmalariga qo`yilgan talablar

Enzimologiya o`quv fanini o`zlashtirish jarayonida amalga oshiriladigan masalalar doirasi magistrlar:

- asosiy ilmiy va ilmiy-texnik muammolar;
- fan va texnika rivojlanish istiqbollari va ularning fanlararo aloqalari;
- biologik kataliz asoslari;
- biologik jarayon va hodisalarni ilmiy tekshirish usullari xaqida va ularni biologiyaning aniq mutaxassislik yo`nalishlarida qo`llanilishi;
- biopolimerlarning tuzilishi va xossalari;
- tirik organizmlarda genetik axborotning berilish yo`llari haqida tasavvurga ega bo`lishi;
- enzimologiya sohasida hamda amaliy masalalarda nazariy bilimlarni keng qo`llay bilishni;
- enzimologiya yo`nalishida ilmiy va amaliy masalalar yechishning usullarini qo`llashni;
- maxsus tayergarlik soxalari bilan bog`langan asosiy obyektlar, hodisalar va jarayonlarni;
- xujayra va gen muhandisligida fermentlarning rolini bilishi va ulardan foydalana olishi;
- qo`yilgan masalani yechishda mos usulni qo`llay bilish;
- aniq ilmiy, ilmiy-texnologik vazifani yechishni amalga oshirishda asbob-uskunalarni tanlash;
- axborot texnologiyasining so`ngi zamonaviy yutuqlarini qo`llab natijalarni qayta ishlash va xisoblash;
- jahon tajribasi va jahon adabiyoti ma`lumotlari asosida olingan natijalarni tahlil qilish;
- enzimologiyaning ba`zi sohalarida yangi tashhisiy usullarini o`rganish;

- molekulyar kasalliklarning fermentlarga bog'liqligi va ularni davolash usullarini aniqlash ko'nikmalariga ega bo'lishi kerak.

Fanning o'quv rejadagi boshqa fanlar bilan o'zaro bog'liqligi

Enzimologiya fani asosiy ixtisoslik fani hisoblanib, 1 semestrda o'qitiladi. Dasturni amalga oshirish o'quv rejasida rejalashtirilgan matematik va tabiiy (oliy matematika, informatika va axborot texnologiyalari, biometriya, fizika, anorganik va analitik kimyo, organik kimyo va fizik va kolloid kimyo), umumkasbiy (mikrobiologiya, genetika, sitologiya va individul rivojlanishbiologiyasi) fanlardan yetarli bilim va ko'nikmalarga ega bo'lishlik talab etiladi.

Fanni o'qitishda zamonaviy axborot va pedagogik texnologiyalar

Talabalarning "Enzimologiya" fanini o'zlashtirishlari uchun o'qitishning ilg'or va zamonaviy usullaridan foydalanish, yangi informatsion-pedagogik texnologiyalarni tadbiiq qilish muhim ahamiyatga egadir. Fanni o'zlashtirishda darslik, o'quv va uslubiy qo'llanmalar, ma'ruza matnlari, tarqatma materiallar, elektron materiallar foydalaniladi. Fanning o'qitish turlari dasturda ko'rsatilgan mavzular ma'ruza, amaliy mashg'ulotlar shaklida olib boriladi. shuningdek atroflicha bilim olishni ta'minlash maqsadida talabalarga mustaqil ish mavzulari ham beriladi. Ma'lumotlar ko'rgazmali o'quv qurollari, kodoskop, multimedia yordamida olib boriladi. Ma'ruza va seminar darslarida mos ravishda fanning ilg'or texnologiyalardan foydalanilgan holda olib boriladi.

"Enzimologiya" kursini o'rganishda quyidagi asosiy konseptual yondashuvlardan foydalaniladi:

- Shaxsga yo'naltirilgan ta'lim;
- Tizimli yondashuv;
- Faoliyatga yo'naltirilgan yondashuv;
- Dialogik yondashuv;
- Hamkorlikda ta'limni tashkil etish;
- Muammoli ta'lim;

Axborotni taqdim etishning zamonaviy vositalari va usullarini qo'llash – yangi kompyuter va axborot texnologiyalarini o'quv jarayonida qo'llash;

O'qitishning usullari va texnikasi –ma'ruza, muammoli ta'lim, kichik guruhlarda ishlash, munozarali dars;

O'qitishni tashkil etish shakllari –dialog, polilog, o'zaro hamkorlikga asoslangan frontal, kollektiv va guruh;

O'qitish vositalari – o'qitishning an'anaviy shakllari (darslik, ma'ruza matni) va yangi axborot texnologiyalari;

Teskari aloqa usullari va vositalari – blits so'rov, joriy, oraliq va yakuniy baholash natijalari asosida tahlil o'tkazish;

Boshqarish usullari va vositalari – auditoriya soatlari va darsdan tashqari mustaqil ishlarning nazoratini vazifalar berish orqali amalga oshirish;

Monitoring va baholash – talabalarning o'quv mashg'ulotlarida egallagan bilimlari natijalari test topshiriqlari, yozma ish variantlari va og'zaki so'rov asosida aniqlanadi va baholanadi.

”Enzimologiya” fanidan mashg`ulotlarning mavzular va soatlar bo`yicha taqsimlanishi

t/r	Mavzular nomi	jami soat	Ma`ruza	Amaliyot mashg`	Mustaqil ta`lim
1	Kirish. Enzimologiyaning qisqacha rivojlanish ta`rixi.	10	2	2	6
2	Fermentlar haqida tushuncha	10	6	4	8
3	Fermentlar nomenklaturasi va klassifikatsiyasi.	14	2	4	6
4	Fermentativ reaksiyalar kinetika	10	6	4	8
5	Fermentlarning ta`sir qilish mexanizmi	12	4	4	6
6	Fermentlar aktivligini boshqarilishi	12	4	4	8
7	Fermentlarning qo`llanilishi.	22	4	4	8
	Jami	100	28	26	50

Asosiy qism. Fanning uslubiy jihatdan uzviy ketma-ketligi

Asosiy qismda fanning mavzulari mantiqiy ketma-ketligi, ushbu fanlarda qo`llaniladigan pedagogik texnologiyalar va foydalaniladigan adabiyotlar ro`yxati hamda ulardan foydalanish bo`yicha ko`rsatmalar keltirilmoqda.

Ma`ruza mashg`ulotlari:

Kirish. Enzimologiyaning qisqacha rivojlanish ta`rixi. Fermentlarning tuzilishi, xossalari. Kirish. Enzimologiyaning rivojlanish ta`rixi, predmeti, vazifalari. Enzimologiyaning rivojlanish istiqbollari. Fermentlarning kimyoviy tuzilishi. Fermentlarning oqsil qismi, apoferment. Kofermentlar. Kofaktorlar. Fermentlarning faol va allesterin markazlar.

Qo`llaniladigan ta`lim texnologiyalari: *muammoli ta`lim, munozara, blits-so`rov.*

Adabiyotlar: A1; A2; A4; Q1; Q4; Q5; Q9; Q12.

Fermentlarning o`rganish uslublari. Biomaterialdan fermentlarni ajratib olish, tozalash, gomogenligini aniqlash.

Qo`llaniladigan ta`lim texnologiyalari: *aqliy hujum, blits-so`rov.*

Adabiyotlar: A1; A3; A4; Q1; Q3; Q7; Q10; Q11.

Kataliz, fermentativ reaksiyalar kinetikasi. Kataliz fermentativ reaksiyalar kinetikasi. Mixaelis-Menten tenglamasi, fermentativ jarayonlarga substrat va ferment konsentratsiyasi ta`sirining nazariy asoslari.

Qo`llaniladigan ta`lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara.*

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q2; Q6; Q7; Q9; Q12.

Fermentlar faolligining boshqarilishi. Fermentlarning to`qima va xujayralar lokalizatsiyasi. Massalar ta`siri qonuni. Ferment miqdori. Kofermentlar. Fermentning kimyoviy modifikatsiyasi. Ferment faolligining teskari ta`sir asosida

boshqariluvini. Ferment faolligi boshqariluvining boshqa xillari. Ovqat hazm qilish tizimi fermentlari. Qon tarkibidagi fermentlar. To`qima va xujayralardagi fermentlar.

Qo`llaniladigan ta`lim texnologiyalari: *munozara, blits-so`rov*.

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q4; Q7; Q8; Q9.

Fermentlarning tasniflanishi va nomeklaturasi. Oksiredutazalar, transferazalar, gidrolazalar va liazalar. Fermentlarning tasniflanishi. Oksireduktazalar, transferazalar, gidrolazalar, liazalar, izomirazalar, ligazalar (sintetazalar). Oksireduktazalar va transferazalarning xossalari, lokalizatsiyasi, bajaradigan katalitik jarayonlar. Gidrolazalar va liazalar tuzilishi, xossalari, lokalizatsiyasi, bajariladigan katalitik reaksiyalari.

Qo`llaniladigan ta`lim texnologiyalari: *aqliy hujum, klaster..*

Adabiyotlar: A1; A4; Q2; Q3; Q7; Q11.

Izomerazalar va ligazalar. Fermentlarning ahamiyati. Amaliy enzimologiya. Izomerazalar va ligazalar tuzilishi, xossalari, lokalizatsiyasi, bajariladigan katalitik reaksiyalari. Fermentlarning tirik organizmdagi moddalar almashinuviga qatnashishi, ya`ni hayotiy jarayonlarning kechishidagi ahamiyati. Amaliy enzimologiya.

Qo`llaniladigan ta`lim texnologiyalari: *aqliy hujum, blits-so`rov*.

Adabiyotlar: A1; A3; A4; Q1; Q2; Q4; Q7; Q12.

Fermentlarning oziq-ovqat sanoati va qishloq xo`jaligidagi ahamiyati. Fermentlar preparatlardan oziq-ovqat sanoatida foydalanish. Qishloq xo`jaligidan oldinadigan maxsulotlarga fermentativ ishlov berish. Chorva mollari oziqasini g`amlashda fermentativ jarayonlardan foydalanish. Qishloq xo`jalik chiqindilariga ishlov berishda va o`g`it sifatida foydalanishga fermentlarning ahamiyati.

Qo`llaniladigan ta`lim texnologiyalari: *aqliy hujum, munozara*.

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2; Q3; Q5; Q8; Q10; Q12.

Enzimologik muxandislik va undan foydalanish istiqbollari. Enzimologik muxandislik nima? Oziq-ovqat sanoati, sanoat miqyosida organik moddalar ishlab chiqarish terini oshlash va dorivor moddalar ishlab chiqarish uchun kerakli fermentlarni enzimologik muxandislik asosida ajratib olish. Enzimologik muxandislik asosida biotexnologik yo`l bilan yangidan-yangi moddalar ajratib olish istiqbollari.

Qo`llaniladigan ta`lim texnologiyalari: *aqliy hujum, klaster*.

Adabiyotlar: A1; A2; A3; Q1; Q2; Q4; Q6; Q9; Q10.

”Enzimologiya” fani bo`yicha ma`ruza mashg`ulotlarining kalendar tematik rejasini

t/r	Mavzular nomi	soat
	1-mavzu: Kirish	
1	Kirish. Enzimologiyaning qisqacha rivojlanish ta`rixi. Fermentlarning tuzilishi, xossalari.	2
	2-mavzu: Fermentlar haqida tushuncha	
2.1	Fermentlarning o`rganish uslublari.	2

2.2	Oqsillarning struktura tuzilishi. Fermentlarning oqsilga xos xususiyatlari.	2
2.3	Koenzim va boshqa kofaktorlar. Fermentlarni ajratish va tozalash usullari	2
3-mavzu: Fermentlar nomenklaturasi va klassifikatsiyasi		
3.1	Klasifikatsiya qilishning ba'zi pritsiplari. Fermentlarning ba'zi vakillari	2
4-mavzu: Fermentativ reaksiyalar kinetika		
4.1	Fermentativ reaksiyalar kinetikasi. Aktivlanish energiyasining pasayishi	2
4.2	Enzim-substrat kompleksi. Uning hosil bo'lishi haqida fizikaviy tassavur va ximiyaviy taxlil.	2
4.3	Fermentlar spetsifikligi. Absolyut, nisbiy, gruppaviy va sterioximiyaviy spetsifiklik	2
5-mavzu: Fermentlarning ta'sir qilish mexanizmi		
5.1	Fermentlarning ta'sir qilish mexanizmi.	2
6-mavzu: Fermentlar aktivliligini boshqarilishi		
6.1	Fermentlar faolligining boshqarilishi. Fermentlarning to'qima va xujayralar lokalizatsiyasi	2
Fermentlarning qo'llanilishi.		
7.1	Immobilangan fermentlar. Tibbiyot enzimologiyasining muammolari.	2
7.2	Amaliy enzimologiya.	2
7.3	Fermentlarning oziq-ovqat sanoati va qishloq xo'jaligidagi ahamiyati.	2
7.4	Enzimologik muxandislik va undan foydalanish istiqbollari.	2
Jami		28

Amaliyot mashg'ulotlarining tavsiya etiladigan mavzulari

Geksokinaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash. Geksokinaza haqida umumiy tushunchalar. Xamirtirushdan geksokinazani ajratib olish. Geksokinazani faolligini aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *kichik guruhlarda ishlash , blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q8, Q10.

Glikogenfosforilaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash. Glikogenfosforilaza haqida umumiy tushunchalar. Quyondan mushagidan glikogenfosforilazani ajratib olish. Glikogenfosforilazani faolligini aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *kichik guruhlarda ishlash , blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q4.

Glyukozafosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash. Glyukozafosfatizomeraza haqida umumiy tushunchalar. Quyondan mushagidan glyukozafosfatizomerazani ajratib olish. Glyukozafosfatizomerazani faolligini aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *kichik guruhlarda ishlash , blits-so'rov*

Adabiyotlar: A2; A4; Q2; Q4.

Aldolaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash. Aldolaza haqida umumiy tushunchalar. Quyonglar mushagidan aldolazani ajratib olish. Aldolazani faolligini aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *kichik guruhlarda ishlash , blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; Q2; Q7.

Triozofosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash Triozofosfatizomeraza haqida umumiy tushunchalar. Quyonglar mushagidan triozofosfatizomerazani ajratib olish. Triozofosfatizomerazani faolligini aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *kichik guruhlarda ishlash , blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q2; Q3, Q11.

D-glitseraldegid-3-fosfatdegidrogenaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash. D-glitseraldegid-3-fosfatdegidrogenaza haqida umumiy tushunchalar. Quyonglar mushagidan D-glitseraldegid-3-fosfatdegidrogenazani ajratib olish. D-glitseraldegid-3-fosfatdegidrogenazani faolligini aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *kichik guruhlarda ishlash , blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A2; Q1; Q4.

Fosfoglitsiterokinaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash. Fosfoglitsiterokinaza haqida umumiy tushunchalar. Quyonglar mushagidan fosfoglitsiterokinazani ajratib olish. Fosfoglitsiterokinazani faolligini aniqlash.

Qo'llaniladigan ta'lim texnologiyalari: *kichik guruhlarda ishlash , blits-so'rov*

Adabiyotlar: A1; A3; Q1; Q9, Q11.

"Enzimologiya" fani bo'yicha amaliyot mashg'ulotlarining kalendar tematik rejasi

t/r	Mavzular nomi	soat
1	Geksokinaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.	4
2	Glyukozafosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.	4
3	Glyukozafosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.	4
4	Aldolaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.	4
5	Triozofosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash	2
6	D-glitseraldegid-3-fosfatdegidrogenaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.	2

7	Fosfoglitsferokinaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.	2
8	Fermentlar aktivligiga ingibitorlar ta'sirini aniqlash	2
9	Fermentlar aktivligiga aktivatorlar ta'sirini aniqlash	2
	Jami	26

“Enzimologiya” fanidan mustaqil ta`limni tashkil etishning shakli va mazmuni

“Enzimologiya” fanidan talabning mustaqil ta`limi shu fanni o`rganish jarayoning tarkibiy qismi bo`lib, uslubiy va axborot resurslari bilan ta`minlangan. Ushbu mustaqil ish topshiriqlari adabiyotlar asosida bajariladi.

“Enzimologiya” fanidan talabning mustaqil ta`limi majmuasi fanning barcha mavzularini qamrab olgan va 7 ta katta mavzu ko`rinishida shakllantirilgan.

“Enzimologiya” fanidan talabalar mustaqil ta`limining mazmuni va hajmi

t/r	Mustaqil ta`lim mavzulari nomi	Berilgan topshiriqlar	Bajarish muddati	soat
1	O'zbekiston biokimyogar olimlarining enzimologiya taraqqiyotiga qo'shgan hissalari	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	1,2 - haftalar	2
2	Fermentlar aktivligini aniqlash usullari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	3,4,5 - haftalar	2
3	Fermentlarning moddalar almashinuvi jarayonidagi roli.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	6,7 - haftalar	2
4	Fermentlarning nomenklaturasi va klassifikatsiyasi	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	8, 9, 10 - haftalar	4
5	Fermentlarning mikroorganizmlar metabolizmidagi o`rni.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	11, 12 - haftalar	2
6	Fermentlar biosintezini buzilishi oqibatidagi odam organizmining xastaliklari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	13,14,15- haftalar	2

7	Kofermentlik xususiyatlarga ega bo'lgan vitaminlar.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	16,17,18 - haftalar	2
8	Fermentlarning ta'sir qilish mexanizmining asosiy qonuniyatlari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
9	Fermentlar katalitik effektivligini aniqlovchi faktorlar.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
10	Fermentlarning hujayradagi joylashuvi.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
11	Fermentativ reaksiyalar kinetikasi.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
13	Fermentlar aktivligiga ingibitor va aktivatorlarning ta'siri.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
14	Immobilangan fermentlar.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
15	Enzimologiya muxandisligi.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
16	Tibbiyot enzimologiyasining muammolari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
17	Mixaellis-Xoldeyn-Brigs tenglamasi. Mixaelis konstantasini aniqlash.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
18	Lipaza fermentining aktivligiga ingibitorlarning ta'siri.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2

19	Fosfolipazalar va ularning ta'sir qilish mexanizmi.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
20	Mikroorganizmlar fitazasining ba'zibir hususiyatlari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
21	Biotexnologiyadagi zamonaviy yo'nalishlari va fermentlar biotexnologiyasi.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
22	Fermentlar aktivligini aniqlash uslubi va turlari.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
23	Fermentlar etishmovchiligidan kelib chiqadigan patalogik xolatlar.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
23	Fermentlar aktivligini boshqarilishi.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
24	Ferment birligi, fermentlarning tozalik darajasini tekshirish.	Adabiyotlardan va materiallardan konspekt qilish. Individual topshiriqlarni bajarish	Semestr davomida	2
Jami				50

“Enzimologiya” fanidan talabalar bilimini reyting tizimi asosida baholash mezoni

“Enzimologiya” fani bo'yicha reyting jadvallari, nazorat turi, shakli, soni hamda har bir nazoratga ajratilgan maksimal ball, shuningdek joriy va oraliq nazoratlarining saralash ballari haqidagi ma'lumotlar fan bo'yicha birinchi mashg'ulotda talabalarga e'lon qilinadi.

Fan bo'yicha talabalarning bilim saviyasi va o'zlashtirish darajasining Davlat ta'lim standartlariga muvofiqligini ta'minlash uchun quyidagi nazorat turlari o'tkaziladi:

- **joriy nazorat (JN)** - talabani fan mavzulari bo'yicha bilim va amaliy ko'nikma darajasini aniqlash va baholash usuli. Joriy nazorat fanning xususiyatidan kelib chiqqan holda amaliy mashg'ulotlarda og'zaki so'rov, test o'tkazish, suhbat, nazorat ishi, kollektivium, uy vazifalarini tekshirish va shu kabi boshqa shakllarda o'tkazilishi mumkin;

- **oraliq nazorat (ON)** - semestr davomida o'quv dasturining tegishli (fanlarning bir necha mavzularini o'z ichiga olgan) bo'limi tugallangandan keyin talabani nazariy

bilim va amaliy ko'nikma darajasini aniqlash va baholash usuli. Oraliq nazorat bir semestrda ikki marta o'tkaziladi va shakli (yozma, og'zaki, test va hokazo) o'quv faniga ajratilgan umumiy soatlar hajmidan kelib chiqqan holda belgilanadi;

- **yakuniy nazorat (YaN)** - semestr yakunida muayyan fan bo'yicha nazariy bilim va amaliy ko'nikmalarni talabalar tomonidan o'zlashtirish darajasini baholash usuli. Yakuniy nazorat asosan tayanch tushuncha va iboralarga asoslangan "Yozma ish" shaklida o'tkaziladi.

ON o'tkazish jarayoni kafedra mudiri tomonidan tuzilgan komissiya ishtirokida muntazam ravishda o'rganib boriladi va uni o'tkazish tartiblari buzilgan hollarda, **ON** natijalari bekor qilinishi mumkin. Bunday hollarda **ON** qayta o'tkaziladi.

Oliy ta'lim muassasasi rahbarining buyrug'i bilan ichki nazorat va monitoring bo'limi rahbarligida tuzilgan komissiya ishtirokida **YaN** ni o'tkazish jarayoni muntazam ravishda o'rganib boriladi va uni o'tkazish tartiblari buzilgan hollarda, **YaN** natijalari bekor qilinishi mumkin. Bunday hollarda **YaN** qayta o'tkaziladi.

Talabaning bilim saviyasi, ko'nikma va malakalarini nazorat qilishning reyting tizimi asosida talabaning fan bo'yicha o'zlashtirish darajasi ballar orqali ifodalanadi.

«Enzimologiya» fani bo'yicha talabalarning semestr davomidagi o'zlashtirish ko'rsatkichi 100 ballik tizimda baholanadi.

Ushbu 100 ball baholash turlari bo'yicha quyidagicha taqsimlanadi:

Ya.N.-30 ball, qolgan 70 ball esa J.N.-35 ball va O.N.-35 ball qilib taqsimlanadi.

Ball	Baho	Talabalarning bilim darajasi
86-100	A'lo	Xulosa va qaror qabul qilish. Ijodiy fikrlay olish. Mustaqil mushohada yurita olish. Olgan bilimlarini amalda qo'llay olish. Mohiyatini tushuntirish. Bilish, aytib berish. Tasavvurga ega bo'lish.
71-85	Yaxshi	Mustaqil mushohada qilish. Olgan bilimlarini amalda qo'llay olish. Mohiyatini tushuntirish. Bilish, aytib berish. Tasavvurga ega bo'lish.
55-70	Qoniqarli	Mohiyatini tushuntirish. Bilish, aytib berish Tasavvurga ega bo'lish.
0-54	Qoniqarsiz	Aniq tasavvurga ega bo'lmaslik. Bilmaslik.

- Fan bo'yicha saralash bali 55 ballni tashkil etadi. Talabaning saralash balidan past bo'lgan o'zlashtirishi reyting daftarchasida qayd etilmaydi.

- Talabalarning o'quv fani bo'yicha mustaqil ishi joriy, oraliq va yakuniy nazoratlar jarayonida tegishli topshiriqlarni bajarishi va unga ajratilgan ballardan kelib chiqqan holda baholanadi.

- Talabaning fan bo'yicha reytingi quyidagicha aniqlanadi:

$$R = \frac{V * O'}{100}$$

- bu yerda: V- semestrda fanga ajratilgan umumiy o'quv yuklamasi (soatlarda);

O' -fan bo'yicha o'zlashtirish darajasi (ballarda).

- Fan bo'yicha joriy va oraliq nazoratlarga ajratilgan umumiy ballning 55 foizi saralash ball hisoblanib, ushbu foizdan kam ball to'plagan talaba yakuniy nazoratga kiritilmaydi.

- Joriy **JN** va oraliq **ON** turlari bo'yicha 55bal va undan yuqori balni to'plagan talaba fanni o'zlashtirgan deb hisoblanadi va ushbu fan bo'yicha yakuniy nazoratga kirmasligiga yo'l qo'yiladi.

- Talabaning semestr davomida fan bo'yicha to'plagan umumiy bali har bir nazorat turidan belgilangan qoidalarga muvofiq to'plagan bal'lari yig'indisiga teng.

- **ON** va **YaN** turlari kalendar tematik rejaga muvofiq dekanat tomonidan tuzilgan reyting nazorat jadvallari asosida o'tkaziladi. **YaN** semestrning oxirgi 2 haftasi mobaynida o'tkaziladi.

- **JN** va **ON** nazoratlarda saralash balidan kam ball to'plagan va uzrli sabablarga ko'ra nazoratlarda qatnasha olmagan talabaga qayta topshirish uchun, navbatdagi shu nazorat turigacha, so'nggi joriy va oraliq nazoratlar uchun esa yakuniy nazoratgacha bo'lgan muddat beriladi.

- Talabaning semestrda **JN** va **ON** turlari bo'yicha to'plagan ballari ushbu nazorat turlari umumiy balining 55 foizidan kam bo'lsa yoki semestr yakuniy joriy, oraliq va yakuniy nazorat turlari bo'yicha to'plagan ballari yig'indisi 55 balidan kam bo'lsa, u akademik qarzdor deb hisoblanadi.

- Talaba nazorat natijalaridan norozi bo'lsa, fan bo'yicha nazorat turi natijalari e'lon qilingan vaqtdan boshlab bir kun mobaynida fakultet dekaniga ariza bilan murojaat etishi mumkin. Bunday holda fakultet dekanining taqdimnomasiga ko'ra rektor buyrug'i bilan 3 (uch) a'zodan kam bo'lmagan tarkibda apellyasiya komissiyasi tashkil etiladi.

- Apellyasiya komissiyasi talabalarning arizalarini ko'rib chiqib, shu kunning o'zida xulosasini bildiradi.

- Baholashning o'rnatilgan talablar asosida belgilangan muddatlarda o'tkazilishi hamda rasmiylashtirilishi fakultet dekani, kafedra muduri, o'quv-uslubiy boshqarma hamda ichki nazorat va monitoring bo'limi tomonidan nazorat qilinadi.

Talabalar ON dan to'playdigan ballarning namunaviy mezonlari

№	Mazmuni	maks	1-ON
1	Darslarga qatnashganlik darajasi. Ma'ruza darslaridagi faolligi, konspekt daftarlarining yuritilishi va to'liqligi.	15	0-15
2	Talabalarining mustaqil ta'lim topshiriqlarini o'z vaqtida va sifatli bajarishi va o'zlashtirish.	10	0-10
3	Og'zaki savol-javoblar, kollokvium va boshqa nazorat turlari natijalari bo'yicha	10	0-10
Jami ON ballari		35	0-35

Talabalar JN dan to'playdigan ballarning namunaviy mezonlari

№1	Ko'rsatkichlar	maks	1-JN
1	Darslarga qatnashganlik va o'zlashtirishi darajasi. Amaliy mashg'ulotlardagi faolligi, amaliy mashg'ulot daftarlarining yuritilishi va holati	15	0-15
2	Mustaqil ta'lim topshiriqlarining o'z vaqtida va sifatli bajarilishi. Mavzular bo'yicha uy vazifalarini bajarilish va o'zlashtirishi darajasi.	10	0-10
3	Yozma nazorat ishi yoki test savollariga berilgan javoblar	10	0-10
Jami JN ballari		35	0-35

Yakuniy nazorat "Yozma ish" shaklida belgilangan bo'lsa, u holda yakuniy nazorat 30 ballik "Yozma ish" variantlari asosida o'tkaziladi.

Agar yakuniy nazorat markazlashgan test asosida tashkil etilgan bo'lib fan bo'yicha yakuniy nazorat "Yozma ish" shaklida belgilangan bo'lsa, u holda yakuniy nazorat quyidagi jadval asosida amalga oshiriladi.

	Ko'rsatkichlar	YaN ballari	
		maks	O'zgarish
1	Fan bo'yicha yakuniy yozma ish	6	0-6
2	Fan bo'yicha yakuniy test nazorati	24	0-24
Jami		30	0-30

Yakuniy nazoratda "Yozma ish"larni baholash mezoni

Yakuniy nazorat "Yozma ish" shaklida amalga oshirilganda, sinov ko'p variantli usulda o'tkaziladi. Har bir variant 4 ta nazariy va 1 ta amaliy savoldan iborat. Nazariy savollar fan bo'yicha tayanch so'z va iboralar asosida tuzilgan bo'lib, fanning barcha mavzularini o'z ichiga qamrab olgan. 1 ta amaliy savol fermentativ reaksiyalar to'g'risida bo'ladi.

Har bir nazariy savolga yozilgan javoblar bo'yicha o'zlashtirish ko'rsatkichi 0-4 ball, amaliy savolga yozilgan javoblar bo'yicha o'zlashtirish ko'rsatkichi 0-14 ball oralig'ida baholanadi. Talaba maksimal 30 ball to'plashi mumkin.

Yozma sinov bo'yicha umumiy o'zlashtirish ko'rsatkichini aniqlash uchun variantda berilgan savollarning har biri uchun yozilgan javoblarga qo'yilgan o'zlashtirish ballari qo'shiladi va yig'indi talabaning yakuniy nazorat bo'yicha o'zlashtirish bali hisoblanadi.

Foydalanilgan darslik va o'quv qo'llanmalari ro'yhati

Asosiy

8. Тўрақулов Ё.Х. Биохимия. Т. 1996.

9. Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия. М. 2000.
10. Валихонов М.Н.. Биокимё. Тошкент. Университет, 2009.
11. Филипович Ю. Основы биохимии. М., ФЛИНТА, 1999.
12. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. Москва. «Высшая школа» 2000.
13. Березов Т. Биологическая химия. М. 2000.
14. Северин Е.С. Биохимия. М., ГЕОТАР-МЕД, 2004

Qo‘shimcha

9. Уайт т др. Основы биохимии. М.1991.
10. Диксон и Уэб. Ферменты. М. 1985. 3-х томник.
11. Кретович В.Л. Введение в энзимологию. М. 1989.
12. Ленинджер. Основы биохимии. М. 1985. 1 т.
13. Игамназаров Р.П., Абдуллаева М.М., Умарова Г.Б.. Биокимёвий тадқиқот услублари. Тошкент. 2003й.
14. Олий таълим жараёнида замонавий педагогик технология асосида ўқув
15. фаолиятини ташкил этиш услуб ва воситалари. Тошкент Давлат Техника университети. Тошкент. 2007 йил.
16. Фандан ЎУМ. Т.2011

Internet resurslari

4. www.ziyonet.uz
5. www.maik.ru
6. www.pedagog.uz

**O‘TILAYOTGAN FANNING
ASOSIY NAZARIY MATERIALI
(MA‘RUZALAR MATNI)**

Kirish

Fermentlar-oqsil tabiatiga ega bo'lgan biokatalizatorlar bo'lib, ular hayotiy jarayonlarning kechishida hosil bo'ladi, modda almashinuvida ishtirok etish tufayli muhit va organizm o'rtasidagi dialektik birlikni ta'minlaydi. Hayvonlar, o'simliklar va mikroorganizmlarda sodir bo'ladigan hayotiy jarayonlarning kechishida fermentlarning ahamiyati beqiyosdir. Bu makromolekulalar shunday muhim hayotiy jarayonlarni ta'minlaydiki, ular orqali irsiy axborotning ko'chirilishi, bioenergetika, biomolekulalarning sintezi va parchalanishi hokazo hokazolar amalga oshiriladi. Bu makromolekulalarni chuqur o'rganish orqali hanuzgacha sir bo'lib kelayotgan va hayot deb nomlangan keng hamrovli jumboq hodisalar elementlarini mohiyatini birin-ketin ochish imkoniyati yaratildi. Fermentlar va enzimologiyaning biologiya va tibbiyotdagi ahamiyati beqiyosdir. Fermentlarni o'rganish genetik apparat ishini, membranalar faoliyatini, oziqlanish hamda makromolekulalar xususiyatlarini, hujayra ichidagi metabolizmni, kataliz, fiziologik boshqariluv, bakterial achish, energiyaning almashinuvi, biosintez jarayonlari va farmakologik ta'sir mexanizmlarini tushuntirishda muhim ahamiyatga ega bo'ladi.

Bo'lajak biolog bakalavr va biokimyogar magistr ushbu muammolarni to'liq tushunib etgandagina o'z kasbini muvaffaqiyatli mutaxassisi sifatida shakllanadi. Muayyan uslubiy qo'llanma ma'lumotlari bu kasb egalari bilim, malaka va ko'nikmalarini shakllantirishda ularning biokimyovo va fiziologiya fanlari nazariyasi va amaliyoti asosida yanada chuqurlashtirish borasida ko'mak berishi shubhasiz.

Qo'llanmada fermentlar bo'yicha eng zamonaviy ma'lumotlar, fikr va mulohazalar keltirilgan va biokimyogar - magistr uchun rejalashtirilgan namunaviy dastur talablariga to'liq javob beradi.

O'quv qo'llanmada ma'lumotlarni o'zlashtirishini hisobga olgan holda zamonaviy enzimologiyaning ixcham, aniq ma'lumotlarini mumkin qadar tushunarli tarzda bayon qilishga harakat qilingan. Materiallarni o'zlashtirish samaradorligini oshirish maqsadida qo'llanmada, tenglamalar formulalar, jadval, grafik, rasm, ayrim metabolitik jarayonlar sxemalari keltirilgan bo'lib, ular mavzular matnlari bilan uyg'unlashtirilgan.

O'quv qo'llanma bo'yicha tanqidiy mulohazalar, xohish va takliflar mualliflar tomonidan mamnunlik bilan kutib olinadi.

1-MA`RUZA

Mavzu: Kirish. Enzimologiyaning qisqacha rivojlanish ta'rixi. Fermentlarning tuzilishi, xossalari

Fermentlar yoki enzimlar oqsil tabiatli yuqori molekulyar moddalar bo'lib, tirik organizmlardagi o'zaro bir-biri bilan bog'liq bo'lgan yuz minglab va millionlab kimyoviy reaksiyalarni, jumladan-sintez, parchalanish, hamda ko'pdan-ko'p va xilma-xil kimyoviy birikmalarni o'zaro almashinuvi kabilarini amalga oshirishda ishtirok etadi. Hayot va uning xilma-xil tarzda namoyon bo'lishi-kimyoviy reaksiyalar yig'indisi hisoblanib, ular maxsus fermentlar tomonidan katalizlanadi.

Ma'lumki, tirik organizmning muhim xususiyati moddalar almashinuvidir. Bu jarayonni jadallashtiruvchi va yo'naltiruvchi apparatning molekulyar mexanizmlarini asosi sifatida esa fermentlar xizmat qiladi.

1.1. Enzimologiyaning qisqacha rivojlanish tarixi.

Insoniyat o'zining ilk rivojlanish bosqichidayoq, ya'ni ilmu-fan taraqqiy etmagan davrdan boshlab, o'zi tabiatdagi narsa va hodisalarni to'liq tushinib etmagan holda fermentativ jarayonlardan foydalanib kelgan.

Xususan, insoniyat qadim-qadimdan boshlab non pishirish, terini oshlash, vino, sirka, qatiq, pishloq tayyorlash kabi fermentlar ishtirokida kechadigan amaliy jarayonlarni amalga oshiraolgan.

Fermentlar (enzimlar)-oqsil tabiatli katalizatorlardir. Bu makromolekulalar barcha tirik organizmlarda hosil bo'ladi va murakkab funksiyalarni bajaradi. Bu moddalar dastlab (lotincha-

fermentum-achitqi, grekcha-en-ichki, zime-achitqi V. Kyune degani) bo`lib, dastlab achitqidan ajratib olingan. SHu sababli fermentlarni o`rganuvchi fan biokimyoning bir tarmog`i bo`lib fermentologiya yoki enzimologiya deyiladi. Fermentlar haqidagi ta`limotni rivojlanishini 5 bosqichga bo`lish mumkin.

Birinchi bosqich. Ibtidoiy jamoa tuzimi davrida XVII-asrgacha bo`lgan davr. YUqorida qayd qilinganidek qadim-qadim zamonlardan boshlab, ko`p mamlakatlarning halqlari achish bilan bog`liq bo`lgan fermentativ jarayonlardan foydalanish ko`nikmalariga ega bo`lishgan. Bunday jarayonlar jumlasiga non, pishloq, vino, sirka tayyorlash, terini oshlash kabilar kiradi.

Ikkinchi bosqich. XVII asrdan XIX asrlar oralig`idagi davr. 1814 yilda Sank-Peterburg olimi K.S. Kirkgoff arpa maysasigina emas, balki bu maysadan olingan shira ham kraxmalni maltoazgacha parchalash qobiliyatiga ega ekanligini ko`rsatib berdi. Keyinchalik bu shira tarkibidagi moddani «amila» deb nomlagan. Fransiyalik kimyogarlar A. Payen va SH. Pirsolar maysa ekstrakti tarkibidagi termolabil moddani etanol bilan cho`ktirish natijasida olingan cho`kmadan tayyorlangan aralashma kraxmalni parchalanishini isbotlagan va «Diastaza» deb nomladilar. Tez orada L. Paster va YU. Libix o`rtasida chuqur ilmiy tortishuv bo`lib o`tdi. Bunda L. Paster achish jarayonini faqat tirik mikroorganizmning faoliyati tufayli yuz beradi degan fikrni bildirgan bo`lsa, YU. Libix achish bu diastaza kabi maxsus modda ishtirokida yuz beradigan kimyoviy jarayon degan fikrni isbotlashga urindi.

Bu ilmiy tortishuv nemis oimi aka-uka Gans va Edvard Buxnerlar tomonidan 1897 yilda o`z echimini topdi. Ular hujayra tuzilishidan xolis qilingan achitqidan olingan shira shakarni achitib spirtga va karbonat angidridga aylantirishini to`liq isbotladilar. Bu kashfiyot uchun ular 1907 yil Nobel mukofatini sovrindori bo`ldilar.

Uchinchi bosqich. XIX asr oxiridan XX asrning 30-yillarigacha bo`lgan davr. Bu davr oralig`ida hamma tirik organizmlarda uchraydigan fermentlar oqsil tabiatga ega ekanligi to`liq isbotini topdi. SHuningdek birin-ketin bir qancha yangi-yangi fermentlarning mavjudligi aniqlandi va ularning ba`zilari toza kristal xolda ajratib olindi.

Jumladan Amerikalik biokimyogar Dj. Samner ureaza fermentini kanakunjut o`simligi ildizidan toza xolda ajratib oldi. 1930-yilga kelib Dj. Norton oldin pepsinni keyinchalik tripsin va ximotripsinlarni kristal xolda ajratib oldi.

To`rtinchi bosqich. Bu 1930-yillardan 1970-yillargacha bo`lgan davr. Bu davr oralig`ida ko`p fermentlar toza kristal xolda ajratib olindi. Fermentlarning kimyoviy tuzilishini o`rganishga kirishib ketildi. Jumladan fermentlar, ularning tarkibiga kiradigan kofermentlar tadqiq qilindi. shuningdek glikoliz, limon kislotasi sikli, yog` kislotasining beta oksidlanishida ishtirok etadigan fermentlar va fermentativ jarayonlar tadqiq qilindi.

Beshinchi bosqich. Bu enzimologiyaning rivojlanishini zamonaviy bosqichi hisoblanadi. Bu davrda qator fermentlarning birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi va to`rtlamchi tuzilmalarini o`rganish, fermentlarning faollik markazlari ta`sir etish va faolligini boshqarilish mexanizmlarini tavsiflashga erishildi.

Hozirgi kunda bir necha ming xil fermentlarning mavjudligi aniqlangan. 1955-yilda S. Mur va U. Steynlar pankreatik ribonukleazaning birlamchi tuzilmasini aniqladilar. 1969-yilda B. Merifil sun`iy yo`l bilan ribonukleaza fermentini sintezlagan bo`lib, uni tarkibi 124 ta aminokislota qoldig`idan iboratligi to`liq isbotlandi.

Katalitik jaraayonlarni tavsiflashda qatnashgan olimlardan Berselius hisoblanadi. U 1837 yil spirtli va boshqa xil achishlar tirik hujayralar faaoliyati tufayli amalga oshishini aniqladi.

L. Paster va boshqa olimlarning tadqiqotlari shu paytgacha xukm surib kelgan tushunchani, ya`ni achish va chirish jarayonlarida tirik organizmlar o`z-o`zidan paydo bo`lib qoladi degan tushunchani uydurma ekanligini, hamda bu jarayonlar bevosita mikroorganizmlar tomonidan amalga oshirilishini to`liq isbotladi.

Enzimologiyani shakllanishida 1897 yildagi aka-uka Buxnerlar kashfiyotlari ham muhim ahamiyatga ega bo`ldi. Ular hujjatlardan xolis qilingan achitqidan olingan shira shakardan spirt va SO₂ ni hosil bo`lishini katalizlashini isbotladilar.

Bu kashfiyot tufayli achitqidan ajratib olingan shira murakkab fermentlar aralshmasidan

iborat ekanligi, bu fermentlarni achishni amalga oshirishi hamda bu faol moddalar hujayrani ichkarisida ham tashqarisida mavjud bo'lishini tasdiqlandi. XX-asr boshigacha fermentlarning kimyoviy tabiati to'g'risida ko'pdan-ko'p ma'lumotlar to'plandi. Lekin faqat XX-asrda ularning oqsil tabiatiga ega ekanligi to'liq isbotlandi. 1926 yilda Samner ureaza fermentini kristal holatda ajatib oldi. Biroz keyinroq 1931yilda D. Nortrop va Kunitslar pepsin, tripsin, va ximotripsinlarni ham kristal holda ajratib olganliklarini xabar qildilar. SHu paytdan boshlab qator fermentlar toza holda ajratib olindi va ularning hammasi oqsil tabiatiga ega ekanligi isbotlandi.

1.2. Enzimologiyaning predmeti va vazifalari.

Hozirgi kunda tirik hujayralarda sodir bo'ladigan jarayonlarni o'rganish bilan bog'liq bo'lgan tadqiqotlar fermentlarni o'rganishga qaratilgan, Chunki xilma-xil fiziologik funksiyalar, masalan mushaklarning qisqarishi, nerv (asab) qo'zg'alishini o'tkazuvchanligi, buyrak sekresiyasi, yaxlit holda hujayrada sodir bo'ladigan barcha hayotiy jarayonlarning yig'ilishida fermentlar faolligi bilan bog'liq.

Mushak qisqarishi kabi energiya talab qiladigan murakkab jarayon o'z mohiyati jihatidan fermentlar tomonidan katalizlanadigan reaksiyalar zanjiridan iboratdir. Fermentlar hayot jarayonida to'xtovsiz yangilanib zaruriy me'yorda, (lozim bo'lgan o'rinda va muddatda) sintezlanib, hayotning uzluksiz kechishini ta'minlaydi.

Fermentlar to'g'risidagi ta'limot enzimologiya deb nomlanish bilan birga, bu moddalarni o'rganilishini boshlanishi biokimyoni o'zini alohida fan sifatida shakllanishini boshlab berdi. Biokimyo hozirgi kunda fanlar tizimiga aylandi va uning fermentlarga tegishli tarmog'i esa, alohida enzimologiya fani sifatida to'liq shakllandi.

Fermentlar to'g'risidagi fan boshqa qator fanlar, xususan, organik, anorganik va fizik-kolloid-kimyolar, fiziologiya, shuningdek toksikologiya, mikrobiologiya, genetika, farmakologiya, biotexnologiya va boshqalar bilan o'zaro bog'liqlikda jadal rivojlanib bormoqda.

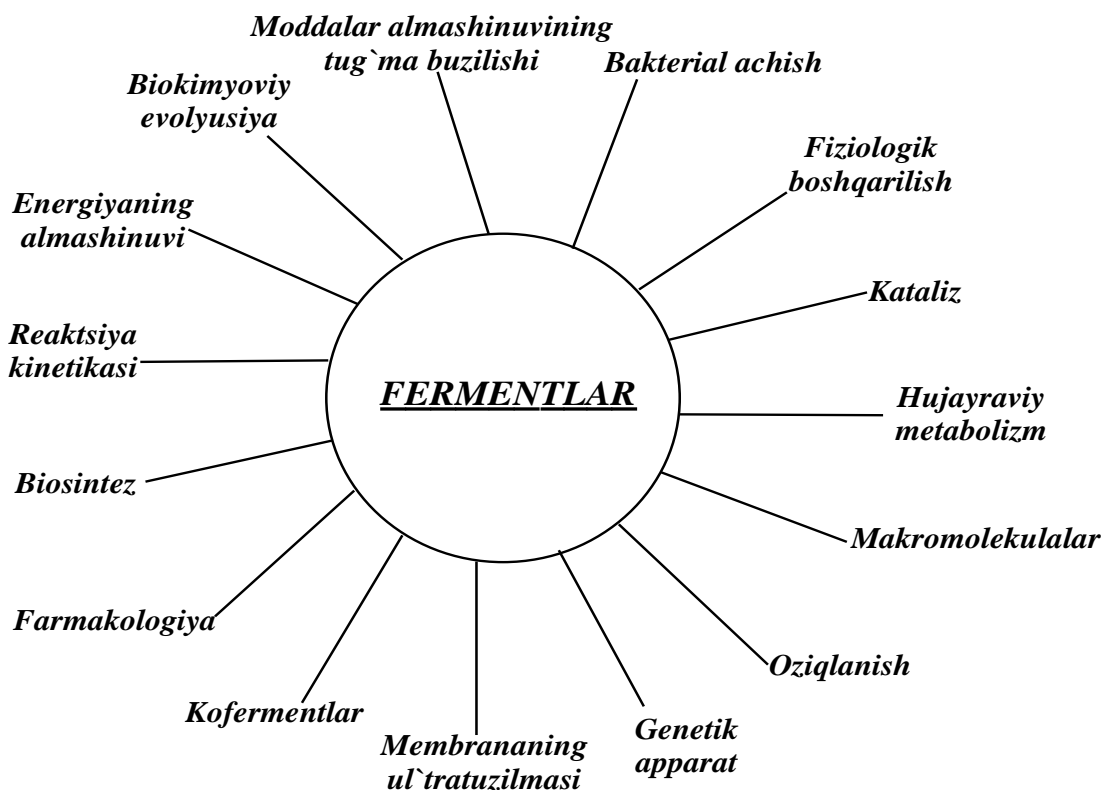
Shunday qilib biokimyoning bu fermentlar bilan bog'liq tarmog'i kimyo, biologiya va tibbiyot fanlari bilan hamkorlikda rivojlanmoqda. A.E. Braunshteyn: «Zamonaviy biologiya enzimologiya tilida gaplashadi» deb bejiz aytmagan.

Enzimologiyaning zamonaviy fizik kimyoviy va molekulyar nuqtai nazardan tushuntiriladigan bo'linsa, u ikkita eng muhim muammoni, ya'ni: bir tomondan fermentlarning makromolekulyar tuzilma ekanligini, ikkinchi tomondan fermentativ katalizning asosida yotgan kimyoviy ta'sirlanish, tabiatini aniqlash bilan mashg'ul bo'ladi.

Fermentlarni o'rganish biologiyani rivojlanishida uni nazariy va amaliy jihatlariga oid muammolar echimini topish muhimligi e'tirof etish bilan birga, halq xo'jaligini va tibbiyot uchun amaliy ahamiyatga molik ishlar, ya'ni: katalizatorlar, antibiotiklar, vitaminlar va boshqa biologik faol moddalarni ishlab chiqaruvchi sanoat kimyo, oziq-ovqat, farmasevtika kabilarini rivojlantirishda ham muhim ahamiyatga ega ekanligini qayd etish lozim bo'ladi.

Rasm 1-dan ko'rinib turibdiki biologiya va tibbiyot fanlarining asosiy sohalarini rivoji fermentlarni o'rganilishi bilan bog'liq va ular enzimologiyaning asosiy mazmun, mohiyati va uslublarida o'z aksini topadi. Farmakologik nuqtai nazardan ko'p dorivor moddalarning ta'sir etish doiralari hali unchalik aniqlanmagan bo'lsada, ma'lum darajada bu jarayonlarni ro'yobga chiqishi fermentlar bilan o'zaro ta'sirlanish orqali sodir bo'lishi haqida ma'lumotlar olingan.

Umumiy va molekulyar enzimologiyaning yutuqlari uning yangi tarmog'i tibbiy enzimologiyani rivojlanishiga olib kelmoqda. Enzimologiyaning bu tarmog'ini maqsad va vazifalari, metodologik yondashuvlari endilikda enzimopatologiya, enzimodiagnostika va enzimoterapiya muammolarini echimiga qaratilmoqda.



1-Rasm. Biologiya va tibbiyotda fermentlar va enzimologiyaning ahamiyati (Grin bo`yicha)

Ovqat hazm qilish jarayonini o`rganish bilan mashg`ul bo`ladigan fan tarmog`i organizmga kirib kelgan oziqa moddalarining ovqat hazm qilish tizimi fermentlari ishtirokida bosqichma-bosqich parchalanishini hamda oziqa moddalari tarkibini ushbu fermentlarning miqdor va sifatiga ta`sir etishiga oid aniq ma`lumotlarga tayanadi. Odam va hayvonlarda uchraydigan irsiy patologiyaning ko`p muammolari maxsus fermentlarning etishmasligi yoki umuman ularning sintezlanmasligi bilan bog`liq.

Hujayraviy o`sinh va rivojlanish, differensiyasiya, fiziologik funksiyalar (harakatlanish va makonda ko`chib yurish, moddalarning tashilishi, qo`zg`alanish va tormozlanish va boshqalar) ning sodir bo`lishi ko`p jihatdan biokatalizatorlarning ishi bilan bog`liq.

1.3. Enzimologiyaning rivojlanish istiqbollari.

Enzimologiyaning insoniyat uchun ahamiyati - uning tibbiyot, dehqonchilik, chorvachilik, biotexnologiya, gen muxandisligi, sanoatning qator tarmoqlari va x.k.z.larning nazariy asoslarini ishlab chiqishda muhimligidadir. Odamlarning qator kasalliklarini kelib chiqish sabablari biokimyoviy jarayonlarning izdan chiqishi, ya`ni irsiy deffekt tufayli ba`zi fermentlarning organizmda sintezlanmasligi tufayli paydo bo`ladi.

Hozirgi kunda 100 dan ziyod bu xildagi kasalliklarning uchrashi ma`lum. Kasalliklarning molekulyar asoslarini chuqur bilmasdan turib, ularga tashxis qo`yish, davolash va profilaktikasi bilan shug`ullanish mumkin emas. Ba`zi kasalliklarni davolashda fermentlardan keng foydalanish yo`nalishi ham istiqbolli yo`nalishlardan biri hisoblanadi.

Enzimologiya yutuqlaridan - non pishirish, pishloq, vino va pivo tayyorlash, choy, yog` ishlab chiqarish, sut, go`sht va baliq, meva va sabzavotlarga qayta ishlov berish kabilarda ham keng foydalanilmoqda.

YAqin kelajakda biologik kimyoning enzimologiya tarmog`i quyidagi muammolarni echimini topishga kirishadi:

- genetik va hujayraviy muhandislik uslublarini ishlab chiqish va takomillashtirish;
- o`simliklarning yangi navlari, yangi hayvon zotlari, mikroorganizmlarning yangi

shtammlarini olishga qaratilgan ishlarni amalga oshirish;

-irsiy kasalliklarning tashxisi, davolash va profilaktikasiga oid yangi uslublarni ishlab chiqish;

-yangi katalizatorlar olish va amaliyotga tadbiiq qilish;

-hujayraning biomolekulalari tuzilmasi va funksiyasini tadqiq qilish;

-odam va hayvonlarda kasallik keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlarning genetik jihatlarini tadqiq qilish va shu asosda kasalliklarga tashxis qo'yish, davolash va profilaktika qilish uslublarini ishlab chiqish;

-kanserogenez, onkogen va onkooqsillar tabiatini o'rganish, ularni paydo bo'lishiga oid molekulyar-biologik mexanizmlarni tadqiq qilish va shu asosda allergiya va o'sma bilan boqliq kasalliklarni davolash;

-bioenergetika, oziqlanish, psixika, shuningdek xotira va miya faoliyatiga muammolarning molekulyar asoslarini tadqiq qilish.

1.4. Fermentlarning kimyoviy tuzilishi.

Hozirgi kunda fermentlar oqsil tabiatiga ega ekanligi to'liq isbotlangan. Fermentlarning oqsil tabiatiga ega ekanligi L.Paster zamonidayoq isbotlangan edi, ya'ni achitqidagi fermentlar aralashmasidan tashkil topgan eritmani qaynatish ularning faolsizlanishi (inaktivatsiyasi) yuz berishi ma'lum edi. Bunda oqsil-fermentning denaturatsiyasi yuz berishi o'z isbotini topgan edi.

Bunda fermentning kimyoviy reaksiyani katalizlovchi o'ziga xos bo'lgan xossasi yo'qoladi. Xuddi shu yo'sinda boshqa oqsil eritmalarini qaynatganda ham ular denaturatsiyaga uchrab, o'zining biologik xususiyatlari (antigen, gormonal, katalitik) ni yo'qotishi ma'lum.

SHuningdek, fermentlar boshqa barcha oqsillar fizik va kimyoviy omillar (UB va rentgen nurlari, ultratovush, mineral kislotalar, ishqorlar, alkaloid reaktivlar, og'ir metall tuzlari) ta'sirida ham denaturatsiyaga uchraydi.

Fermentlar gidroliz natijasida aminokislotalargacha parchalanadi, bu narsa ularning oqsil tabiatiga ega ekanligiga shubha qoldirmaydi.

I.P. Pavlov laboratoriyasida oshqozon shirasini hazm qilish qobiliyatini o'rganish bo'yicha o'tkazilgan shira tarkibidagi oqsil miqdori bilan hazm qilish ko'rsatkichi o'rtasida bog'liqlik borligini to'liq isbotlagan edi. Bu tajribalar asosida oshqozon shirasi tarkibida pepsin fermenti oqsil tabiatiga ega degan xulosa keltirib chiqarildi.

Fermentning oqsil tabiatiga ega ekanligi hozirgi kunda tozalangan va kristall (liofil) holda ajratib olingan namunalarini tahlili asosida to'liq isbotlandi. hatto bu fermentlarning ba'zilarini molekulyar og'irligi, molekulasini tashkil qiladigan aminokislotalarni ketma-ketligi ham to'liq aniqlangan.

Fermentlar oqsillar kabi yuqori molekulyar birikmalarga xos: amfoterlik (eritmalarda anion, kation va amfion tarzda bo'lish), xossasini namoyon qilishi ya'ni, molekulasida musbat va manfiy zaryadlar mavjudligi tufayli elektroforeik xarakterlanish, izoelektrik nuqtada bo'lganda esa elektr maydonida harakatsiz bo'lish xossalariga ega. Fermentlar makromolekulalar modda bo'lgani uchun ularning eritmaları yarim o'tkazgich parda orqali dializlanmaydi. SHu sababligi dializ o'tkazish yo'li bilan ferment eritmaları past molekulyar moddalardan tozalanadi.

Oqsillar kabi ular suvli eritmalaridan past temperaturada tuz yoki aseton, etanol, benzol, toluol, to'rt xlorli uglerod va boshqa suvni tortib oluvchi moddalar qo'shib cho'ktirib ajratib olinadi va shu uslubda ish yuritilganda fermentativ faollik ham saqlanadi.

1.5. Fermentlarning molekulyar og'irliklari.

Toza holda ajratib olingan va liofil (kristall) holatga keltirilgan fermentlarni molekulyar og'irliklarini aniqlash maqsadida ultrasentrifugalash elektroforetik, xromatografik va boshqa uslublardan foydalaniladi. Bu uslublardan foydalanish asosida olingan ma'lumotlar bir-biriga o'zaro mos kelgan taqdirdagina molekulyar og'irligi aniqlanayotgan u yoki bu fermentning molekulyar og'irligi haqida xulosa chiqariladi. Enzimologiyaning zamonaviy rivojlanish bosqichi ko'p fermentlarning aminokislota ketma-ketligini aniqlashni, ya'ni ularning ulkan

makromolekulalarini formulasini yozish imkonini yaratdi.

Jadval 1 da ba`zi fermentlarning molekulyar og`irliklari keltirilgan jadval ma`lumotlaridan ko`rinib turibdiki bu ko`rsatkichlar 13700 Da dan 4500000 Da gachani tashkil qiladi.

1-jadval

FERMENTLARNING MOLEKULYAR OG`IRLIKLARI

T/r.	Ferment	Molekulyar og`irlik. (Da hisobida)
1	Ribonukleaza	13700
2	Sitoxrom c	15000
3	Tripsin	23800
4	Pepsin.	32000
5	Geksokinaza	45000
6	Ishqoriy fosfataza	80000
7	Laktatdegidrogenaza	140000
8	Aldolaza	142000
9	Seruloplazmin	150000
10	Katalaza	248000
11	Glyutomatdegidrogenaza	336000
12	Ureaza	480000
13	Piruvatdegidrogenaza (kompleksi)	4500000

1.6. Fermentlarning oqsil qismi. Apoferment.

Tabiatda oddiy va murakkab oqsil tabiatiga ega bo`lgan fermentlar uchraydi. Oddiy fermentlar polipeptid zanjirlardan tashkil topgan bo`lib, gidroliz natijasida faqat aminokislota qoldiqlarigacha parchalanadi. Bu fermentlarga misol qilib gidrolitik fermentlar, jumladan pepsin, tripsin, papain, ureaza, lizosim, ribonukleaza, fosfataza va x.k.z.larni keltirish o`lish mumkin.

Ko`p tabiiy fermentlar murakkab oqsillar sinfiga mansub bo`lib, ularning tarkibida polipeptid zanjirdan tashqari biron-bir oqsilsiz komponent (kofaktor) ham birikkan bo`ladi. Bu oqsil tabiatiga ega bo`lmagan komponentning makromolekula tarkibida bo`lishi enzimatik faollikni yuzaga chiqishida muhim ahamiyatga ega bo`ladi.

Agar fermentning dissosiasiya konstantasi juda kichik bo`lib, hamma polipeptid zanjirlari alohida-alohida o`zlarining kofaktorlari bilan bog`langan bo`lsa va tozalab ajratib olish, hamda tozalash jarayonlarida ulardan ajralmasa, bu xil ferment xoloferment (xoloenzim) deb nomlanadi. Bu fermentning kofaktori-prostetik guruhi esa, ferment molekulasining integral (chekka) qismi deb qaraladi.

Murakkab fermentlar komponentlarini ilmiy adabiyotda nomlashda boshqacha nomlash uslublaridan ham foydalaniladi. Xususan ferment-proteid, oqsil komponenti, koferment atamalaridan ham foydalangan xoda nomlash uslublari ham mavjud.

1.7. Koferment va kofaktorlar.

Umuman olganda murakkab fermentlarning oqsil tabiatiga ega bo`lmagan qismida organik va anorganik moddalar (metallar) ishtirok etadi. Ular kimyoviy tuzilishi jihatdan 4 xilga bo`linadi:

- 1) Nukleotid tuzilishiga ega bo`lgan nooqsil moddalar.
- 2) Vitaminlar va ularning xosilalari.
- 3) Boshqa nooqsil tabiatli moddalar.
- 4) Metallar va tarkibida metal tutuvchi nooq sil moddalar.

Ko`pincha koferment deganda dissosiasiyalaganda apofermentdan osongina ajraladigan qo`shimcha guruh tushuniladi.

Ba`zi hollarda prostetik guruh va polipeptid zanjir o`rtasida kovalent bog` bo`lishi mumkin. Masalan asetilkoenzim-A-karbonsilazada kofaktor biotin apofermentning aminoguruhi bilan kovalent bog`langan bo`ladi.

Boshqa hollarda kofaktorlar va peptid zanjirlari o`rtasidagi bog`lanish nisbatan kuchsiz (masalan vodorod bog`lar elektrostatik o`zaro ta`sirlanish va x.k.z.) bo`lishi mumkin. Bu holatlarda fermentlarni ajratib olish jarayonida bu ikki qismning dissosiasiyasi sodir bo`lib, ajratib olingan oqsil komponenti etishmagan kofaktorni tashqaridan kiritmaguncha fermentativ faollikka ega bo`lmaydi.

Aynan shunday ajratib olingan past molekularli organik moddaga "koferment" atamasi ishlatiladi. Ular jumlasiga tarkibida Vitamin V₁, V₂, V₆, RR tutuvchi kofermentlar kiradi. SHuningdek elektronlarni, vodorod atomini yoki har xil guruhlar, masalan amino, asil, karboksil guruxlarni oraliq ko`chirilish reaksiyalarida faol ishtirok etadigan prostetik guruxlar va kofermentlar ham uchraydi.

Prostetik gurux va koferment tushunchalarini bir-biridan mutloq ajratish ham o`rinsiz hisoblanadi. Masalan, D-aminokislotalari oksidazasi tarkibida FAD kofaktor bo`lib, oksil molekulasidan osongina ajraladi. Xuddi shu kofaktor hujayradagi oksidlanish-qaytarilish jarayonida ishtirok etuvchi ferment tarkibida kovalent bog`langan bo`lib prostetik gurux (koenzim) -koferment vazifasini bajaradi.

Hozirgi kunda 2500 dan ziyod fermentlar ma`lum bo`lib, ulardan 40% o`zining katalitik faolligini namoyon qilishi uchun qo`shimcha oqsil tabiatiga ega bo`lmagan birikma-koferment yoki koenzimning bo`lishini talab qiladi.

Bu xil fermentlar jumlasiga oksireduktazalar va transferazalar, ligazalarning hammasi, liazalarning ancha qismi va ba`zi izomerazalar kiradi.

YUqorida keltirilgandek faqat gidrolazalar kofermentlarga "muxtoj" emas, ular katalitik jarayonni faol markaz ishtirokida amalga oshiradi.

Kofermentlarning kimyoviy tabiati xilma-xildir. Ular orasida alifatik, aromatik, hamda geterosiklik tuzilishga ega bo`lgan organik birikmalar uchraydi va bu kofermentlar bir komponentli va ko`p komponentli bo`lishi mumkin.

Kofermentli enzimlarning 85% nukleotid tabiatiga ega bo`lib, ulardan taxminan 165 tasi NAD⁺, 155tasi NADF⁺, 50 tasi ham NAD⁺ ham NADF⁺, 80tasi koenzim A va 225tasi ATF⁺ tutadi. Piridoksalfosfat ham ancha keng tarqalgan kofermentlardan biri hisoblanadi. qator fermentlarning tarkibida koferment sifatida FMN va FAD, shuningdek xinoid tabiatli birikmalar uchraydi. Koferment sifatida yana boshqa organik moddalar ham ishtirok etadi, masalan oksidlanish va qaytarilish reaksiyalari uchun lipoy kislota, glutation va temirporfirinlar, glyukozil qoldiqlar va ularning xosilalarini ko`chirishda nukleozid fosfatshakarlar, fosfat lipidlarning biosintezida azotli asoslarni ko`chirish reaksiyalarida sitidinfosfatidilxolinlar ishtirok etadi.

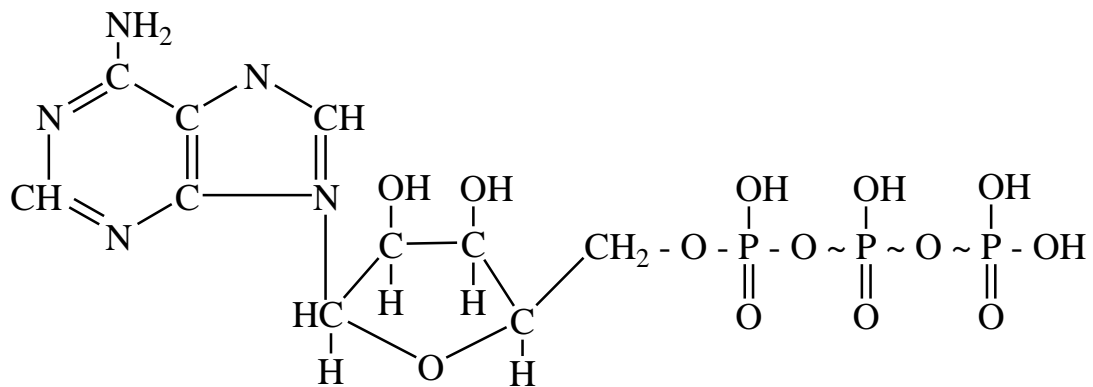
Nukleotid fosfatli kofermentlar.

Adenozin trifosfat.

Birinchi bo`lib Lipman biokimyoviy jarayonlarning xarakatlantiruvchi kuchi sifatida ATF ning gidrolizi natijasida ajralib chiqadigan energiya ekanligini qayd etgan edi. Bu jarayonlar o`z ichiga mushakning qisqarishi, fotosintez, biolyuminessiya, elektroorganlarning razryadi, shuningdek oqsillar, nuklein kislotalar, murakkab shakarlar, lipidlar va h.k.z.larning biosintezini o`z ichiga oladi.

Tarkibiga ATF bo`ladigan fermentlar ancha ko`p. ATF talab qiladigan reaksiyalarni ikki sinfga bo`lish mumkin. Birinchi sinfga ATF ni mos keladigan akseptor molekulaga ko`chirish reaksiyasini amalga oshiruvchi reaksiya bo`lsa, ikkinchi sinfga ATF ni parchalanishidan hosil bo`lgan energiya orqali yuz beradigan reaksiya hisoblanadi.

ATF to`g`risida juda ko`pdan-ko`p ma`lumotlarni keltirish mumkin. Enzimologiya nuqtai nazaridan bu moddaning kimyoviy tuzilishini keltirish bilan birga undagi ikkita ortofosfat orasidagi pirofosfat tipidagi bog`lar uzilganda har biri mol hisobiga 700-800 kal. energiya ajratishini alohida qayd etish lozim.

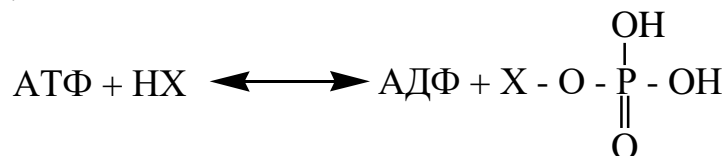


ATF ~ bog`lar – pirofosfat tipidagi bog`lar.

SHu sababli bu energiyaga boy fosfat bog`i makroergik bog`lar deyiladi.

ATF ning hujayrada hosil bo`lish va parchalanish reaksiyalarini chuqur tadqiq qilish ATF hujayraning energetik rejimida asosiy o`rin tutishini isbotladi. ATF, ADF va AMFlar fosfat guruhini hamda energiyani ko`chirish bilan o`tdigan juda ko`p reaksiyalarida ishtirok etadi. Reaksiya natijasida bir reaksiyon jarayon energiyasi ikkinchi reaksiyon jarayon energiyasiga ko`chadi. ATFning turli biokimyoviy funksiyalari fosfat, pirofosfat va adozin-51 monofosfat qoldiqlarini ko`chirish bilan bog`liq. Bu reaksiyalarning bir turida ATF va ADFning pirofosfat bog`idagi energiya yangi paydo bo`layotgan fosforlangan birikmaga o`tdi. quyidagi takrorlanib turuvchi reaksiyalar paydo bo`ladi:

ATFning so`ngi (terminal) fosfat guruhining maxsus kinazalar ta`sirida ko`chirilishi natijastda ADF va tarkibida makroergik bog` tutuvchi-fosfoamid, fosfenol, fosfoangedrid birikmalar hosil bo`ladi:

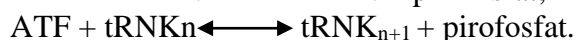
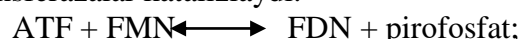


Bu reaksiyalar o`ngdan chapga siljiganda turli substratlardagi energiya (makroergik fosfat bog`i) ADF ga ko`chirilib, ATF hosil bo`ladi.

2. ATFDan pirofosfattransferazalar ta`sirida pirofosfat qoldiqning ko`chirilishi:



3. ATF, ADF va boshqa nukleotidil fosfatlarning qoldiqlarini akseptor guruhlariga ko`chirish. Bu reaksiyalarni nukleotidil transferazalar katalizlaydi.



4. ATF + D-geksoza \rightarrow ADF + D-geksoza - 6 - fosfat

Adozin fosfatlar boshqa fosfat birikmalar bilan dinamik muvozanatda bo`ladi. Masalan GTF ADF bilan qaytarilib turuvchi quyidagi reaksiyani beradi:



Bu xil reaksiyalar ITF, STF, UTF lar bilan ham har ikkala (chap va o`ng tomon) yo`nalishida bo`lib o`tdi.

Uridinli nukleotidlar.

Uridinli nukleotidlar karbon suvlarning almashinuvida ishtirok etuvchi fermentlar hisoblanib, ularning tarkibiga uridinukleotid koferment sifatida kiradi.

Bu fermentlarni UDF-karbonsuv pirofosforilaza yoki uridil transferaza deb yuritiladi. Fermentativ katalizda uridinli kofermentlar ikki xil vazifani bajaradi. Eng avvalo bu kofermentlar xilma xil reaksiyalarda glyukozil qoldiqni ko`chirilishda ishtirok etadi. Masalan UDF-glyukoza (UDFG) glyukoza guruhni fruktozaga ko`chirib saxaroza, antranil kislotaga ko`chirib G-aminobenzolglyukozani hosil qiladi, shuningdek glyukozani glyukogen molekulasini chekka

glyukozasiga ko`chirib malekulani uzunlashuvini ta`minladi:

UDF-karbonsuv xilidagi kimyoviy ta`sirlanishning ikkinchisi shakar malekulasini o`zida bo`ladigan o`zgarishlardir.

Masalan UDFG- 4- epimeraza UDFG va UDF - galaktozalarning o`zaro almashinuvchi reaksiyasini katalizlaydi:

Sigon /Sitidinli nukleotidlar.

Agar ferment tarkibidagi adienozinli va uridinli nukleotidlardan tashkil topgan prostetik guruhlar tegishli aldegidlar va asillarning oksidlanish ko`lamidagi guruhlarni ko`chirilishida ishtirok etsa, sitidinli nukleotidlar tegishli spirtlarning oksidlanishidagi ko`lamda guruhlarni ko`chirishda ishtirok etadi.

Kennedi va Veyslar fikriga muvofiq SDF-xolin va SDF-etanolaminlar lesitinlarni biosintezida oraliq maxsulot sifatida ishtirok etar ekan. Xuddi shuningdek guanozinli nukleotidlar ham kofermentlik funksiyasini bajaradi. Lekin bu xolatlar adenozinli, uridinli va sidinli nukleotidlardagidan kamroq uchraydi.

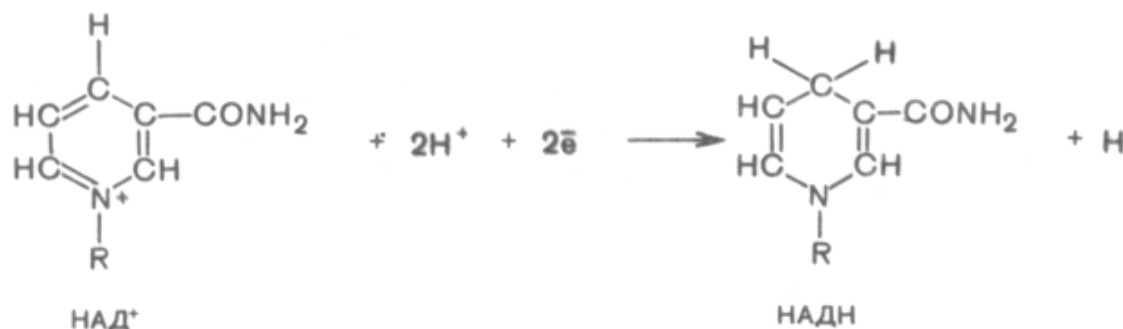
Nikotinamidli kofermentlar.

Nikotinamidli kofermentlarga NAD + (nikotinadenindinukleotid) va NADF + (nikotinadenindinukleotidfosfat) lar pirimidin va purinli geterosikllar, ikkita uglevod va pirofosfat kislota qoldiqidan iborat.

NAD⁺ va NADF⁺ kofermentlar hisoblanadi va ular oqsillar bilan uncha barqaror bo`lmagan birikma hosil qiladi.

Nikotinamidli kofermentlar juda ko`p degidrogenazalarning tarkibiga kiradi.

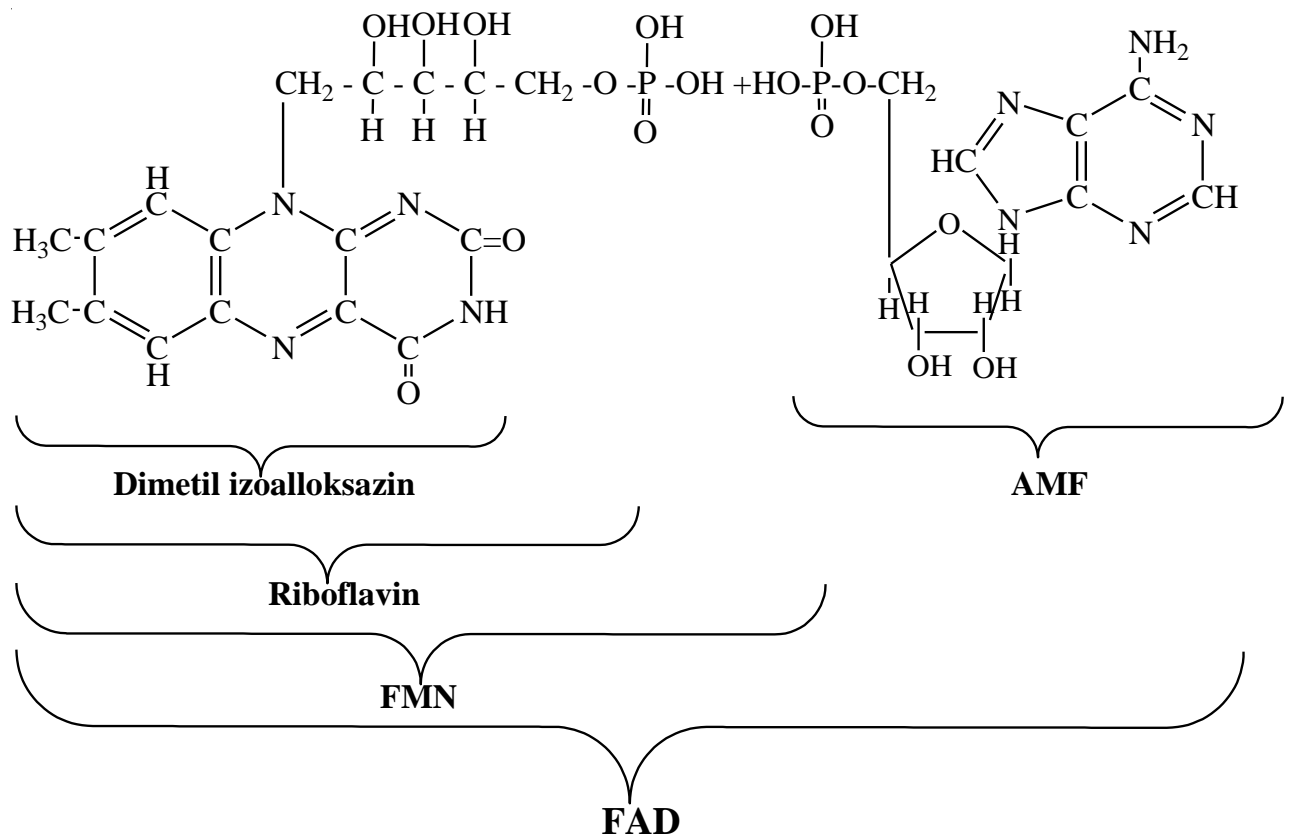
Bu degidrogenazalar gidrid-ion (n⁻)ni substratdan kofermentning nikotinamid qismiga ko`chiradi, bunda bitta proton muhitga ham chiqadi.



Gidrid-ionning ko`chirilishi tufayli hosil bo`lgan NADN⁺ va NADFN⁺ apoferment bilan bog`lanishi susayadi va degidrogenazadan ajraladi. Bu qaytarilgan kofermentlar proton va elektronlarni navbatdagi ikkinchi ferment bilan bog`langan akseptorga uzatgandan so`ng yana oksidlanib oldingi xolatiga qaytishi va apoferment bilan bog`lanishi mumkin. Bu kofermentlarning oksidlangan shakli qutblangan nurni 260 nm da maksimal yutsa, qaytarilgan shakli 340 nm da yutadi. NAD⁺ va NADF⁺ li degidrogenazalar hamma tirik organizmlarda uchraydi, ularning bu xildagi universalligi tirik tabiatdagi metabolizmning asosiy yo`nalishlari bir xil ekanligini ko`rsatadi.

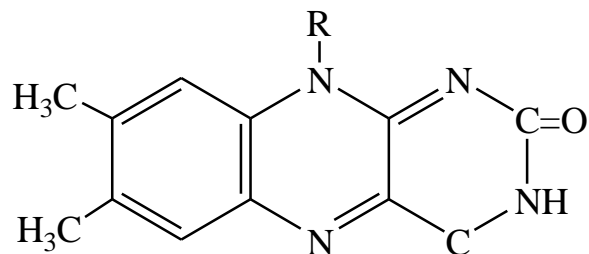
Hozirgi kunda LDG (laktatdegidrogenaza), MDG (malatdegidrogenaza), ADG (alkogoldegidrogenaza) GAFDG (gliseraldegidfosfatdegidrogenaza) lar yaxshi o`rganilgan va ular to`g`risida ilmiy ma`lumotlar to`plangan.

Bu guruhga FMN (flavinmononukleotid) va FAD (flavinadenindinukleotid) kiradi. Bular ikkalasi ham Vitamin V₂ (riboflavin) xosilalari hisoblanadi. FMN nukleotid emas tarkibida riboza yo`q uni o`rniga besh atomli spirt bo`lib unga fosfat kislota qoldiqi qo`shilgan.



Agar riboflavindagi fosfat kislotasi qoldiqiga AMF ning fosfat kislotasi biriksa unda FAD hosil bo`ladi.

FMN ham, FAD ham oksidlovchi-qaytaruvchi (flavoproteinli) ferment tarkibida faoliyat ko`rsatadi. hozirgi kungacha yuzga yaqin flavinli fermentlar ma`lum. Ularning ishchi qismi dimetilizoalloksazinli xalqa hisoblanadi.

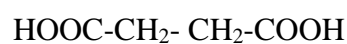


Oksidlovchi flavoproteinlar 280, 350-380 va 450 nm larda maksimum yutish qobiliyatiga ega. qaytarilgan holatda ko`rish spektrida maksimum yutish qobiliyati yo`qoladi.

Bu kofermentlar yarim asetallarni laktonlarga, spirtlarni aldegidlarga, aminlarni iminlarga, to`yingan yog` kislotalarini va to`yinmagan yog` kislotalarigacha oksidlanish reaksiyalarini katalizlaydi.

Flavinli fermentlar birlamchi va ikkilamchi bo`lishi mumkin. Birlamchi flavinli degidrogenazalar tortib olinadigan vodorodni bevosita oksidlanadigan moddadan tortib olishi mumkin.

Masalan, uch karbonkislotalar siklida suksinatdegidrogenaza (SDG) qahrabo kislotadan bevosita ikkita vodorod tortib olib uni fumar kislotagacha oksidlaydi.



Qahrabo kislotasi

Ikkilamchi flavinli degidrogenazalar vodorodni NAD^+ ni va NADP^+ ni degidrogenazalardan qabul qilib oladi. Baʼzi flavoproteinli fermentlar tarkibida metall atomlari ham uchraydi, ularni metalloflavoproteinlar deb yuritiladi. Ularga aldegidoksidaza va ksantinoksidazalar kiradi. Ksantin oksidaza tarkibida 2 molekula FAD, 2 atom molibden va 8 atom temir uchraydi.

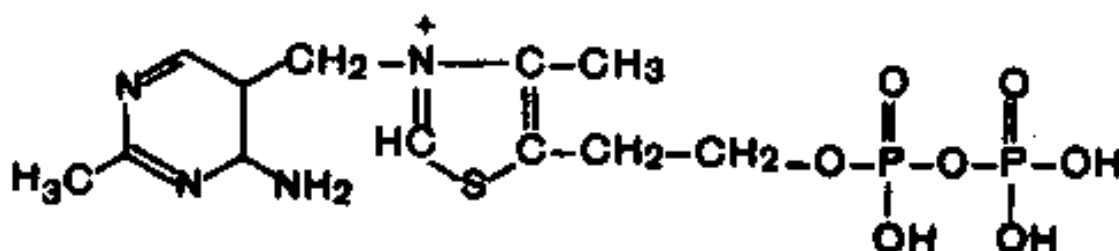
Piridoksal fosfatli, tiaminpirofosfatli kofermentlar

Piridoksalfosfat tutuvchi fermentlar qator xilma-xil reaksiyalarni katalizlaydi.

Bu reaksiyalar aminokislotalarning rasemasiyasi, transaminlanish, aminokislotalarning dekarboksillanishi, degidratasiya, desulfinlanish va h.k.z. larni tashkil qiladi.

Tiaminpirofosfat biologik tizimlarda keng uchraydigan koferment boʻlib, dastavval qushlarning polinevriti va odamlarning «bori-bori» kasalligini oldini oluvchi omil sifatida kashf etilgan edi. Yensen va Donatlar 1925 yil uni kristall holda vitamin V_1 sifatida ajratib olganlar. Bundan 10 yil keyin esa Uilyams va Klaynlar uning kimyoviy tuzilishini aniqlangan edilar.

Tiaminpirofosfat kimyoviy jihatdan:



tuzilishiga ega.

Tiaminpirofosfat uch xil fermentativ reaksiyalarning kofermenti sifatida xizmat qiladi, ular birinchidan α -ketokislotalarni oksidlanishsiz dekarbonsillanishi, ikkinchidan α -ketokislotalarni oksidlanuvchi dekarbonsillanishi va nihoyat uchinchidan α -ketollarning hosil boʻlishi hisoblanadi.

- 1).
- 2).
- 3). OʻZIDAN

Fermentlarning boshqa xil oqsilsiz tavsifli prostetik guruhleri

Bular jumlasiga Kobamid (Vitamin V_{12}) ni, biotinli, glutationli, lipoatkislotali, tetragidrofol kislotali, gemtutuvchi kofermentlarni kiritish mumkin.

Kobamidli kofermentlar vitamin V_{12} ga oʻxshash birikmalardir, ularni V_{12} kofermentlar yoki kobamid kofermentlar deb yuritiladi. Bu birikmalar 1958 yilda Barker va hammualliflar tomonidan ajratib olingan. U 5-6 dimetil imidazol tutuvchi modda hisoblanadi. Bu modda vitamin V_{12} dagi sian guruhi oʻrniga 5-dezoksiadekozol guruhi qushilishidan hosil boʻladi.

Kobamid koferment.

Kobalt kobamidli koferment tarkibida uchvalentli holatda boʻladi.

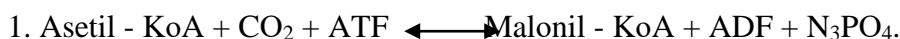
Vitamin V_{12} ning hosilalari juda koʻp ular xilma-xil metabolitik jarayonlarda ishtirok etadi. Tarkibiga bu kiradigan fermentlar jumlasiga metil-malonil-Ko A- mutaza, glyutamutmutaza, dioldegidrazalar kiradi.

Biotinli kofermentlar.

Biotin koferment sifatida karboksillanish reaksiyalarida ishtirok etadi. SHu sababli biotin tanqisligida organizmda karboksillanish reaksiyalari izdan chiqadi. Bu vitamin oqsil bilan bogʻlagan holda SO_2 ni koʻchiruvchi fermentning prostetik guruhini tashkil qiladi. Bunda “faollashgan SO_2 ” biotindagi ^1N ga birikadi. Bu kompleksning hosil boʻlishida energiya sarflanib, energiya bir molekula ATFning ADF va anorganik fosfoga aylanishidan hosil boʻladi.

Ferment molekulasida biotinning karboksil guruhi oqsil komponentdagi lizinning -aminoguruhi bilan amid bog'i orqali birikadi.

Biotin katalizlaydigan reaksiyalarga malonil-Ko A va oksaloasetat hosil bo'lishini misol tariqasida keltirish mumkin.



Glutationli kofermentlar.

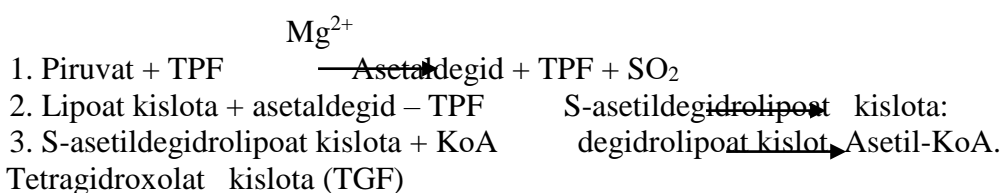
Glutation tabiatda keng tarqalgan bo'lib, u kimyoviy jihatdan qaraganda glyutamyl-sisteinil-glisin tripeptidi hisoblanadi. Glutationning tarkibida sistein bo'lganligi sababli u erkin sulfhidril guruhga ega. Glutation kuchsiz oksidlovchilar, masalan, yod, ferrosianid, metallar-katalizatorlar ishtirokida molekulyar kislorod bilan, ferment glyutation-degidrogenaza ishtirokida esa degidroaskorbat kislotasi bilan oksidlanib, o'zining oksidlangan shakli-geksopeptidga o'tadi.

Oksidlanish-qaytarilish reaksiyalari tufayli glutation CH guruhlarini biologik tashuvchisi hisoblanadi. Glutation ba'zi izomerlanish vodorodning molekula ichida ko'chish reaksiyalarida koferment rolini o'ynaydi. Lekin glutationning kofermentlik funksiyalari boshqa xil reaksiyalarga bog'liq bo'ladi. Glutation metil glioksalning laktat kislotaga aylanishini kataliz qiluvchi glioksalaza fermentini koenzimi sifatida ta'sir qiladi.

Glutation maleinat kislotasi hosilalarini fumarat kislotasi hosilalariga izomerlanishi va aromatik α -ketokislotalarning fenilpiruvat tautomerazasi ta'sirida enollanish reaksiyalarida ham ishtirok etadi.

Ubixinon (Koenzim Q) nafas olish tizimida vodorod tashuvchi sifatida muhim o'rin tutadi. U tuzilishi jihatdan Vitamin K ga o'xshaydi. Mitoxondriya nafas olish zanjirida qaytarilgan FAD dan vodorod atomlarini qabul qilib olib gidroksinon xosilasiga aylanadi. qaytarilgan ubixinon sitoxrom tizim bilan munosabatda bo'ladi va ularga elektron uzatadi.

Lipoat kislotasi ham o'simlik, hayvon hujayralari va mikroorganizmlarda keng tarqalgan. Lipoat kislotaning biologik ahamiyati tiaminpirofosfatga qo'shilgan holda pirouzum kislotaning oksidlanishini katalizlashdir. Bu jarayon piruvatning dekarboksillanishida hosil bo'ladigan asetaldegidning tiaminpirofosfat (TPF) bilan kompleks hosil qilishini va so'ngra asetaldegid guruhining lipoat kislotasi bilan reaksiyaga kirishishini o'z ichiga oladi:



Tetragidroxolat kislotasi (TGF) bir uglerodli fragmentlarni ko'chirishda ishtirok etadigan koferment hisoblanadi.

TGF ning γ -glutamin bog'lar bilan birikkan ettitagacha glutamin kislotalarning o'zaro qo'shilishidan hosil bo'lgan poliglutaminli xosilalari ham shu xildagi kofermentlik funksiyasini bajaradi.

TGF - kofermentlar formiat, formaldegid va metanolga mos keladigan oksidlanish darajasidagi bir uglerodli fragmentlarni ko'chirish reaksiyalarida ishtirok etadi.

Tarkibida gem tutuvchi kofermentlar.

Gem tutuvchi kofermentlar tabiatda keng uchraydi. Porfirinlar odatda ko'p metallar: magniy, temir, ruh, nikel, kobalt, mis va kumush bilan komplekslar hosil qiladi. Agar porfirinlarning magniyli komplekslari fotosintezda ishtirok etuvchi xlorofilni hosil qilsa, tarkibida ikki valentli temir bo'lgan porfirinli kompleks-gem hisoblanadi. Gem organizmda kislorodni tashuvchi oqsillar tarkibiga kiradi. SHuningdek bu kompleks birikma xilma-xil oksidlanish va vodorod peroksidi

parchalanish reaksiyalarida ishtirok etuvchi fermentar tarkibiga kiradi. Gem katalaza, peroksidaza, sitoxromoksidazalarning tarkibida uchraydi.

Metal va metal tutuvchi onoksil prostetik guruhlar.

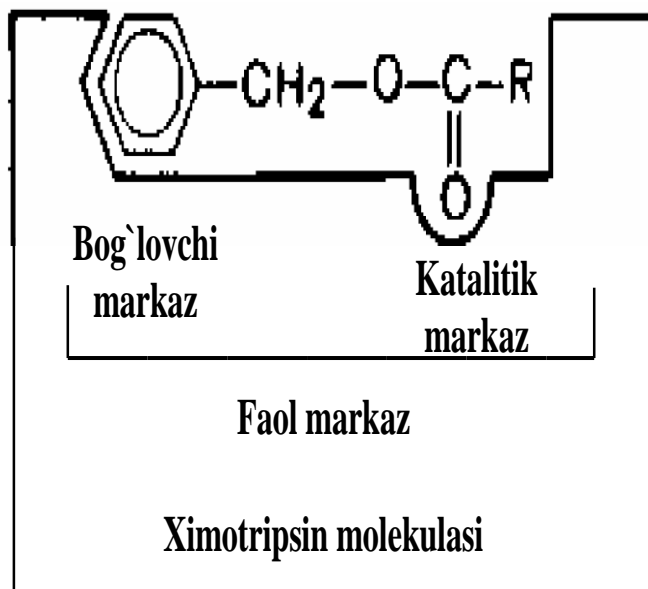
Hozirgi kunda yuzdan ziyod fermentlar metalloproteinlar ekanligi aniqlandi. Ularni haqiqiy metall tutuvchi fermentlarga va metallar ta'sirida faollanuvchi fermentlarga bo'lish mumkin. Birinchilarda fermentni ajratib olish va tozalash jarayonida ham tarkibida metal saqlanadi. Ikkinchi xillari metal bilan barqaror birikma hosil qilmaydi va tozalash jarayonida metal molekuladan ajraladi. Metallardan Mn^{2+} , kobalt $^{2+}$, nikel $^{2+}$, ruhlar $^{2+}$ oqsilning azot atomlar bilan, ruh $^{2+}$, mis $^{2+}$, temir $^{2+}$ va boshqalar oltingugurt bilan, kalsiy $^{2+}$ va magniyalar $^{2+}$ fosfat va karboksil guruhlar bilan bog'langan bo'ladi. Bu fermentlar ham qator oksidlanish-qaytarilish guruhlarini ko'chirish va boshqa reaksiyalarda ishtirok etadi.

1.8. Fermentlarning faol va allosterik markazlari.

Fermentativ reaksiyalarda ishtirok etadigan substrat molekularini ferment molekulari kattaligi bilan qiyoslansa substrat molekulari uncha yirik bo'lmasligi aniq bo'lib qoladi. SHU bois fermentning substrat bilan ta'sirlanishi tufayli hosil bo'ladigan ferment-substrat kompleksida fermentning ma'lum bir chegaralangan aminokislotalardan iborat bo'lgan peptid zanjirigina ishtirok etadi.

SHU sababli fermentning "faollik markazi" degan tushuncha paydo bo'ldi. Bu atama bilan ferment molekulasida aminokislotalar kombinasiyasining kataliz jarayonida substrat molekulari bilan bevosita mo'jizaviy ta'sirlanishini ta'minlanishi tushiniladi. Murakkab fermentlarda faol markaz tarkibiga prostetik guruhlar ham kiradi.

Faol markazda substrat bilan bevosita ta'sirlanuvchi katalitik markaz va substratga moslikni maxsus ta'minlovchi va uni ferment bilan kompleksini shakllantiruvchi bog'lovchi markaz yoki to'qnashuvchi ("langar") maydon farqlanadi.

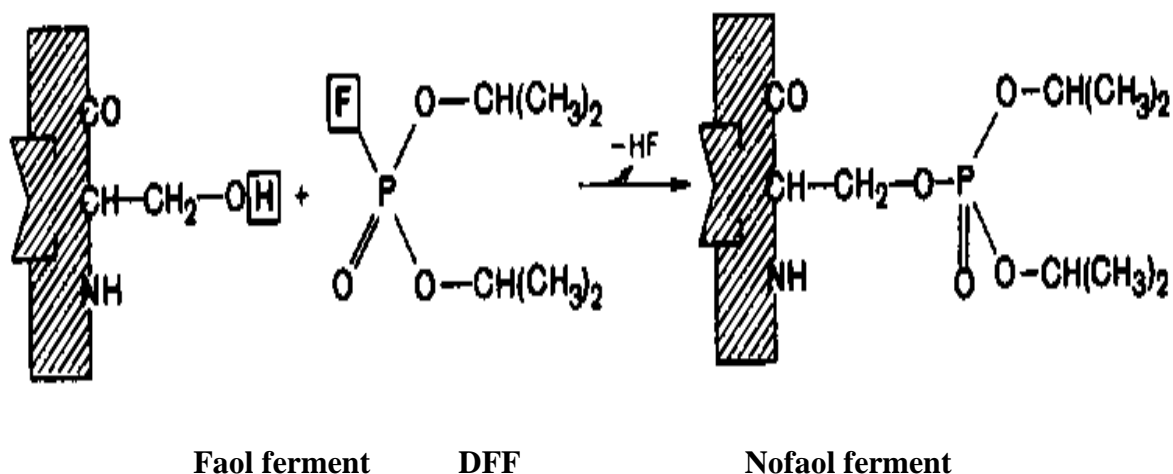


Ximotripsinning markazida gistidinning ikkita va serinning bitta qoldiqi borligi aniqlangan. Inhibitor tahlili asosida har xil guruhlariga kiruvchi fermentlarning faol markazlarida umumiylik borligini aniqlash borasidagi tadqiqotlar olib borilgan.

Xususan dizopropil-ftor-fosfat (DFF) dan foydalanganda asetilxolinni xolin va sirka kislotagacha gidrolizlanishini katalizlovchi fermenti to'liq o'z faolligini yo'qotishi ma'lum bo'ldi.

Bu modda tuzilishi jihatdan xolinga yaqin bo'lib faol markazda joylashgan serinning ON guruxi bilan ta'sirlanadi, natijada fermentning faolligi yo'qoladi. Boshqa qator fermentlarning faol markazida ham serin bo'lgani sababli DFF tomonidan shu aminokislotani fosforlashi tufayli

faolsizlanishi yuz beradi.



Qator fermentlarning “katalitik faol” serin aminokislotasini yaqinidagi aminokislotalarni aniqlashga oid ishlashlar olib borilgan. quyida Maler va Krdes bo`yicha esteraza va proteinazalarning serin atrofida joylashgan aminokislotalar ketma-ketligi keltirilgan (Jadval 2).

BA`ZI FERMENTLARNING SERIN AMINOKISLOTASI ATROFIDA JOYLASHGAN AMINOKISLOTALAR KETMA-KETLIGI

T/R	Ferment.	Serin atrofida joylashgan aminokislotalar ketma-ketligi.
1	Ximiotripsin	—→ G li- A sp- S er-Gli-Gli
2	Tripsin	—→ G li- A sp- S er-Gli-Gli
3	Trombin	—→ G li- A sp- S er-Gli-Pro-Val
4	Elastaza	—→ A sp- S er-Gli
5	Butirolinesteraza	—→ A sp- S er-Gli
6	Asetil xolin esteraza	—→ G li-Glu- S er-Ala
7	Ishqoriy fosfataza	—→ G li-Glu- S er-Ala-Gli-Gli

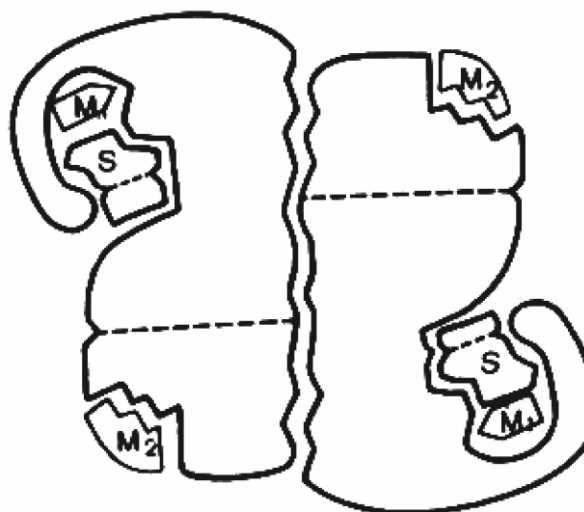
Denaturasiyani keltirib chiqaradigan har handay ta`sir, ya`ni fermentning uchlamchi tuzilmasini buzilishi, faollik markaz tuzilmasini buzilishiga va buning natijasida faollikning yo`qolishiga sababchi bo`ladi.

Faol markazdan tashqari ferment molekulasida allosterik markaz ham bo`lishi mumkin.

Allosterik markaz fermentning molekulasi substratdan farqlanadigan odatda past molekularli (effektor yoki modifikator deb nomlangan) modda (ligand) birikadigan bo`lagi hisoblanadi. Fermentning allosterik markaziga effektorning birikishi uning uchlamchi, ko`pincha to`rtlamchi tuzilmasini o`zgarishiga sababchi bo`ladi. Bunday holat yo fermentativ faollikni susaytiradi yoki aksincha kuchaytiradi.

Faolligi faol markazning va shu bilan birgalikda allosterik markazning holatiga bog`liq bo`lgan fermentlarni allosterik fermentlar deb yuritiladi. Ularning farqli xususiyatlari oligomer ferment molekulasida makonda bir-biridan ajralib turadigan bir necha xil faol markazlar va bir necha xil allosterik boshqaruvchi markazlarning bo`lishidadir.

Sxematik jihatdan allosterik ferment quyidagi rasmda ko`rsatilgan.



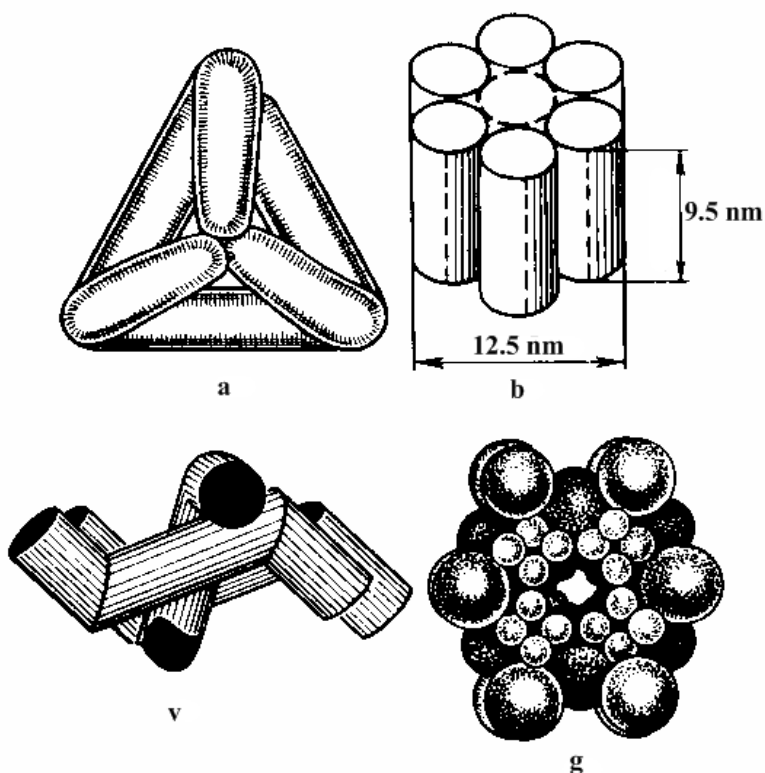
Rasmdan ko`rinib turibdiki, har bir simmetrik tuzilmaga ega bo`lgan ikkita protomer bittadan substrat (S)ni o`ziga biriktiruvchi faol markaz (M) ga va bittadan effektorni o`ziga biriktiruvchi allosterik markaz (M2) ga ega, ya`ni ferment molekulasida ikkita markaz mavjud.

1.9. Izofermentlar.

Tirik tabiatda o`zaro o`xshash ikki yoki undan ko`p subbirlikdan iborat bo`lgan, bir xil yoki har xil birlamchi, ikkilamchi va uchlamchi tuzilmalari bilan farqlanadigan fermentlar uchraydi.

Bu fermentlarni izoferment deb yuritilib, ular o`zaro o`xshashligi, katalizlaydigan reaksiyani maksimal tezligi (faolligi) yoki boshqarilish xossalari bilan bir-biridan farqlanadi.

Subbirliklarni ko`pincha protomerlar, birlashgan oligomer molekulani esa-multimerlar deb nomlanadi. (rasm...)



1-rasm. Ba`zi oligomer fermentlarning tuzilish modeli.

a)-Glutamatdehidrogenaza (6ta protomerdan tashkil topgan M.O. 336000Da);

- b) -RNK-polimeraza molekulasi;
- v) -katalaza molekulasining yarmi;
- g) -piruvatdehidrogenazaning molekulyar kompleksi;

Oqsillarning oligomerizasiyalanishi ularning denaturasiya omillari (qizdirish, proteazalar ta'siri) ga nisbatan barqarorligi va chidamligini oshiradi.

Izofermentlarda odatda subbirlklar o'rtasida kovalent bog'lanishlar bo'lmaydi. Ular o'rtasidagi bog'lanishlar nokovalent bo'lganligi sababli bu fermentlar osongina protomerlarga dissosiasiyalanadi.

Izofermentlardagi o'ziga xos noyob xususiyatlardan biri shuki, birlashma kompleksdagi fermentlarning faolligi alohida-alohida olingan subbirlklarning o'zaro birikish tartibiga bog'liq. Demak xarxil subbirlklardan tashkil topar ekan va ularning subbirlklari o'zaro bir-biridan farqlanar ekan. Hamda bu subbirlklar bir-biri bilan har xil ko'rinishda birikadi, shu bois ular har xil faollikni namoyon qiladilar.

SHu yo'sinda hosil bo'lgan fermentlar izoferment (izoenzim)lar hisoblanadi.

YUqorida keltirilgan tamoilga muvofiq ikki xildagi subbirlk

(N va M)dan iborat bo'lgan laktatdehidrogenaza (LDG) misolida izofermentlarni tavsiflansa, bu subbirlkdan 5 xil kombinasiya ?osil qilish mumkin bo'ladi.

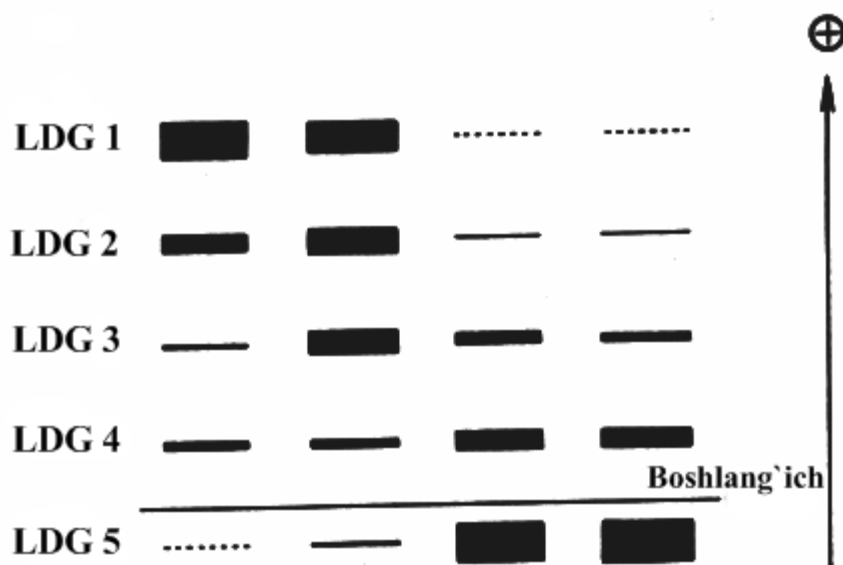
Faol ferment N va M subbirlklardan tuzilgan quyidagi kombinasiyalardan biri bo'lishi mumkin:

- 1) NNNN yoki N₄
- 2) NNNM yoki N₃M
- 3) NNMM yoki N₂M₂
- 4) NMMM yoki NM₃
- 5) MMMM yoki M₄

Bu kombinasiyalardan hosil bo'lgan laktatdehidrogenaza izofermentlarini o'zaro mos holda LDG₁; LDG₂; LDG₃; LDG₄ va LDG₅ deb atash mumkin.

LDG ning izofermentlari bir xil fermentativ faollikni namoyon qilgani holida har xil fizik-kimyoviy xossaga molekulyar og'irlikka, elektroforetik harakatchanlikka ingibitorlar va aktivatorlarga munosabat xususiyatlariga ega.

Har xil to'qimalardan ajratib olingan LDGlarning poliakrilamid gelda elektroforez yo'li bilan tadqiq qilinganda izofermentlarning nisbiy miqdorlari xilma-xil ekanligi ma'lum bo'ladi. (rasm 3)



3-Rasm

Har xil organlarda LDG izofermentlarini taqsimlanishi va nisbiy miqdorlari. Izoferment ekstraktlari "start" chizig'iga kiritilgan. Tajriba uchun tanlab olingan rN chegarasida LDG

izofermentlaridan 3 tasi anod (LDG₁; LDG₂; LDG₃)ga, bittasi (LDG₅) katodga qarab harakatlanadi.

Rasmdan ko`rinib turibdiki, me`yor chegarasida har bir to`qima uchun o`ziga xos LDGning nisbiy shakllari (izoferment spektr) mavjud. Masalan, yurak mushaklari N₄ ya`ni LDG₁ ligi va skelet mushaklari va jigar M₄ (LDG₅) ligi bilan tavsiflanadi.

Bundan tibbiy amaliyotda keng foydalaniladi. Chunki LDG ning izofermentlarini (boshqa fermentlarni ham) qon zardobida paydo bo`lishi organ va to`qimalarning jarohatlanishini aniqlashda, ya`ni differensial tashxis qo`yishda muhim ahamiyatga ega bo`ladi qon zardobi tarkibida izofermentlar miqdorini aniqlash patologik jarayonning topografiyasi va organ yoki to`qimaning jarohatlanishi darajasini aniqlash imkonini beradi.

2-MA`RUZA

Mavzu: Fermentlarni o`rganish uslublari (2 soat)

Fermentlar oqsil tabiatiga ega bo`lganligi sababli oqsillarni o`rganishda qo`llaniladigan uslublar fermentlar uchun ham qo`llaniladi. SHu bilan birgalikda fermentlarning tarkibi oqsil komponentidan tashqari oqsil tabiatiga ega bo`lmagan prostetik guruhga ham ega bo`lganligi sababli va bu komponentlarning ba`zilari oqsil komponenti bilan barqaror birikma hosil qilsa, boshqalari bu komponent bilan sustroq birikadi. SHu sababli fermentlarni o`rganishda o`ziga xos uslubiy yondashuvlarini qo`llashga to`g`ri keladi.

Fermentlarni o`rganishda organizmning yaxlitligiga shikast etkazmasdan tadqiq qilish mumkin. Masalan u yoki bu radiaktiv izotoplar (²N, ¹⁵O, ¹⁸O, ³²R, ¹⁴S, ³⁵S, ¹³¹J, ⁵⁹Fe, ²⁴Na) larni organizmga kiritish yo`li bilan fermentlar faolligini o`zgarishiga oid tadqiqotlarni o`tkazish mumkin. SHuningdek qon namunasini yoki to`qimadan olingan biopsiya namunasida ferment faolligini o`rganishga oid ma`lumotlarni olish mumkin.

Bundan tashqari biopsiya materialidan fermentlarni o`rganish bo`yicha gistokimyoviy tadqiqotlar olib borish ham yo`lga qo`yilgan.

Fermentlarni yanada chuqurroq o`rganish uchun analitik-dizintegrasyon uslublaridan foydalaniladi.

Bu uslubning tamoili murakkab biologik tizimni uning alohida qismlarini ajratish maqsadida bosqichma-bosqich oddiylashtirish yoki dezintegrasiyalashdan iborat. Bu uslublarni murakkab tizimlardan oddiy tizimga qarab olib borilishini tasavvur qiladigan bo`lsak, unda ish tartibini quyidagi ketma-ketlikda: alohida organlarni ajratish, to`qima va hujayra namunalari kesmasini tayyorlash, ulardan gomogenat va subhujayraviy fraksiyalarni ajratib olish, ferment tizimini ferment, koferment va boshqa reaksiya komponentlaridan foydalanib, in vitro tarzda qisman yoki to`liq rekonstruksiya qilish asosida amalga oshiriladi.

Fermentlarning kimyoviy tarkibi, fizik-kimyoviy xossalari aminokislota tarkibi, ularning joylashish ketma-ketliklarini o`rganish oqsil kimyosida qo`llaniladigan uslublar yordamida o`rganiladi.

Buning uchun ularni ishqoriy va ishqoriy er metallarining tuzlari yordamida eritmalaridan "tuzli ishlov berish" asosida yoki past temperaturada etanol va boshqa organik erituvchilarning har xil konsentrasiyalari bilan bosqichma-bosqich cho`ktirib ajratib olish uslubi qo`llaniladi.

So`nggi yillarda oqsil va fermentlarni xromatografik va elektroforetik uslublarda fraksiyalab ajratish keng qo`llanilmoqda. Xromatografiyaning adsorbsion, taqsimlanuvchi, ion-almashinuvchi, affin, gel-xromotografiya xillaridan foydalaniladi. Elektroforetik uslublar ham fermentlarni o`rganishda keng qo`llanib, ular qog`oz, kraxmal geli va poliakrilamid gellarda amalga oshiriladi.

Fermentlarni ajratib, tozalab olgandan keyin ularni gomogenligini (tozalik darajasi) ni aniqlash muhim ahamiyatga ega. Tozalik darajasini bir necha xil uslublarda aniqlanadi jumladan ultrasentrifugalash, polinkrilamid gelda o`tkaziladigan disk elektroforez, izoelektrik fokuslash, immunokimyoviy uslublar va eruvchanlikni aniqlash kabilardan foydalaniladi. Fermentning gomogenligi aniqlangandan so`ng uning aminokislota tarkibi va nooqsil tabiatda ega bo`lgan qismi

(agar tarkibida uchrasa) o'rganiladi. Buning uchun gomogen ferment 6N HSl yoki 5NVa(ON)₂ ning eritmasi bilan gidrolizlanadi. Gidrolizat tarkibidagi aminokislota-larning avtomatik aminokislota analizatori yoki qog'oz xromotografiyasi uslubida aminokislotalarning ningidrin bilan reaksiyaga asoslanib ham sifatii ham miqdoriy taxlillari o'tkaziladi.

Gomogen fermentlar tarkibidagi aminokislota ketma-ketligini aniqlashda ularning N-uchidagi va S-uchidagi aminokislotalar birin-ketin uzib-uzib o'rganiladi.

N-uchidagi aminokislotalarning o'rganishda dinzopronil ftor-benzol (DNFB)dan foydalanilsa, S-uchini o'rganishda karboksipeptidaza fermentidan foydalaniladi.

3-MA`RUZA

Mavzu: Fermentativ reaksiyalar kinetikasi (4 soat)

Kataliz.

Katalizatorlar ishtirokida boradigan reaksiyalarni kataliz deb yuritiladi.

Umumiy kimyo ma'lumotlaridan ma'lumki, kimyoviy reaksiyalarni tezlashtirish uchun o'zaro ta'sirlanuvchi moddalarga qo'shimcha katalizatorlar qo'shish lozim. Katalizatorlar o'zlarining quyidagi xususiyatlari bilan tavsiflanadi:

1. Reaksiyaga kirishayotgan moddalar aralashmasiga katalizator qo'shganda reaksiya tezligi keskin oshadi.

2. Reaksiya oxirida katalizator tarkibiy jihatdan o'zgarmaydi, u stexiometrik tarzda reaksiyaga kirishmaydi.

3. Juda kam miqdordagi katalizator katta miqdordagi moddalarning o'zaro ta'sirlanish reaksiyasini tezlashtiradi.

4. Qaytar reaksiya holatida katalizator muvozanati ko'chirilishini ta'minlamay, uni faqat tezlashtiradi.

5. Katalizator maxsuslik xususiyatiga ega, ya'ni faqat ma'lum reaksiyalarnigina kechishini tezlashtiradi, boshqacha qilib aytganda har xil reaksiyalarni har xil katalizatorlar tezlashtiradi.

6. Katalizatorning faolligi ko'pincha u bilan faol kompleks hosil qiluvchi maxsus faollovchi moddalarning (protomerlar) yoki uni faolsizlantiruvchi moddalarning (zaharlar) mavjudligi bilan bog'liq. Anorganik katalizatorlar sifatida Ni, Rt, sulfat kislota va h.k.z.larni misol tariqasida keltirib o'tish mumkin.

Erda qaytning paydo bo'lishi va tirik organizmlarning evolyusiyasi jarayonida katalizatorlarning murakkab tizimi paydo bo'ldi va takomillasha bordi.

Fermentlar hayot jarayonida to'xtovsiz yangilanib, zaruriy me'yorda bevosita (lozim bo'lgan o'rinda va muddatda) tayyorlanib, hayotning uzluksiz kechishini ta'minlaydi. Binobarin ular biologik katalizatorlardir.

Fermentlar yuqorida qayd etilgunde qo'sil tabiatiga ega bo'lgan moddalar bo'lib, reaksiya tezligiga katalizatorlar sifatida ta'sir ko'rsatadi, ya'ni reaksiyaning faollanish energiyasini kamaytiradi va uni energetik to'siqi past bo'lgan aylanma yo'l orqali o'tkazadi.

Fermentlarning ta'sir etish mexanizmi.

Fermentlarning tuzilishi va funksiyasi shuningdek ta'sir etish mexanizmiga oid muammolar ar yili bo'lib o'tadigan xalqaro anjuman va kongreslarda muhokama qilinadi. Bunda faol markazning tuzilishi har xil tipdagi fermentlarning ta'sir etishi aniq mexanizmlari, enzimologik katalizning umumiy nazariyalariga alohida e'tibor qaratiladi. Fermentlar ta'sirida kimyoviy reaksiyalarning tezlashuvi:

1) substratning ferment-substrat o'rtasida yuz beradigan qaytar dissosiyasi tufayli adsorbsion yoki molekulyar faol holga keltirilishi;

2) radikallar yoki ko'zqaluvchan molekullar ishtirokida yuzaga chiqadigan zanjirli reaksiyalar mexanizmiga asoslanadi.

Biologik katalizda reaksiyaning zanjirli mexanizmi uncha katta ahamiyatga ega emasligi ma'lum bo'ldi.

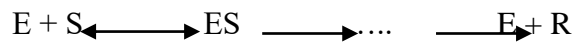
Fermentativ reaksiyalar tabiati o'rganilgandan keyin V. Anri, L. Mixaelis va M.

Mentzlarning enzimatik katalizda ferment (E) o`zining substrati (S) bilan (qaytar holda) birikib uncha barqaror bo`lmagan oraliq ferment-substrat (ES) kompleksi hosil qilib, reaksiya natijasida ferment (E)ning va reaksiya mahsuloti (R) ning ajralib chiqishi yuz beradi degan tushunchalari to`g`ri ekanligi tasdiqlandi.

Mixaelis oraliq mahsulot ferment-substrat (ES) kompleksini hosil bo`lishini bashorat qilibgina qolmay, balki reaksiya tezligiga substrat konsentratsiyasi ta`sirini ham hisoblab topishini taklif qildi. Reaksiya jarayonida bir necha bosqichlarni farqlash mumkin bo`ldi:

- substrat molekulasini ferment molekulasi bilan birikishi;
- birlamchi oraliq mahsulotning bir yoki birnecha ketma-ket keluvchi (o`tkinchi) komplekslarga aylanishi va fermentdan ajralayotgan so`ngi reaksiya mahsulotlarini bir yoki birnecha bosqichlarda ajralib chiqishi.

Bu aytilgan fikrlarni sxematik ravishda:



tarzida ifodalash mumkin.

Anabolitik reaksiyalarda masalan $A + V$ AV tipidagi reaksiyada ferment bitta substrat bilan ham, boshqasi bilan ham birikishi mumkin:

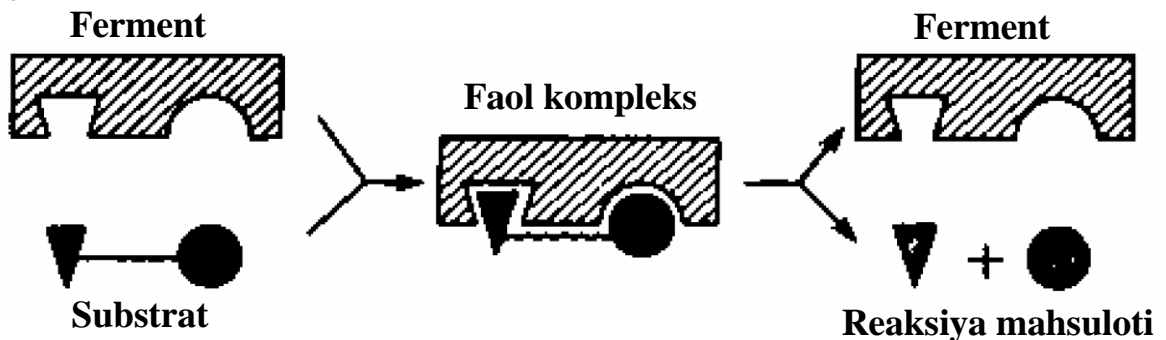


Katabolizm reaksiyalarida masalan AV $A + V$ tipidagi reaksiyalarda bu mexanizm:

- a) $AV + E \longrightarrow AVE$
- b) $AVE \longrightarrow A + VE$ ya`ni $(a+v+v)$:
- v) $VE \longrightarrow V + E$ $AV + E + A + V + E$

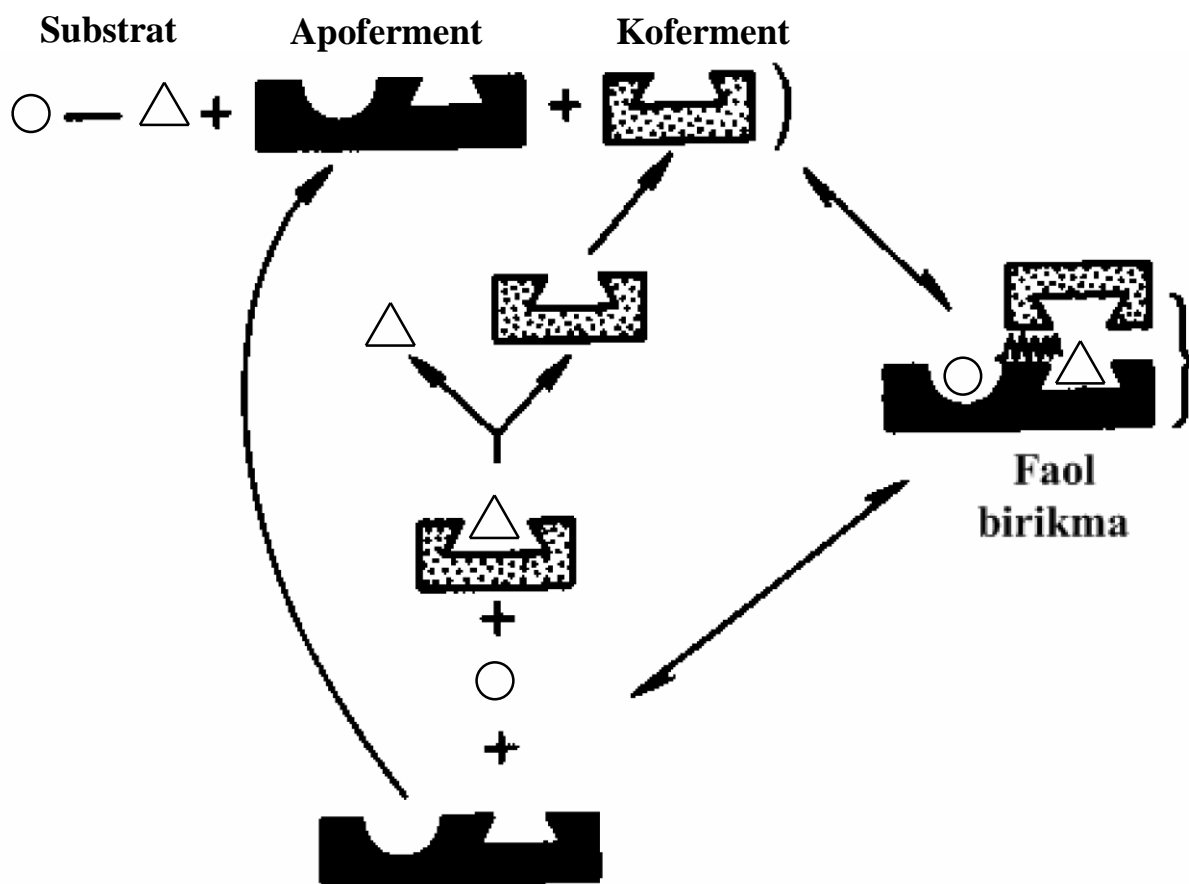
tarzda amalga oshadi.

Agar ferment oddiy oqsildan tashkil topgan bo`lsa, ferment substrat kompleksini hosil bo`lishini



tazda izohlash mumkin.

Agar ferment murakkab oqsil bo`lib, unda koferment ham bo`lsa, u holda reaksiyani kechish sxemasi:



Kofermentning funksiyasi (A. Kantarovu va B. SHepartsu bo'yicha).

Rasm.
tarzda bo'ladi.

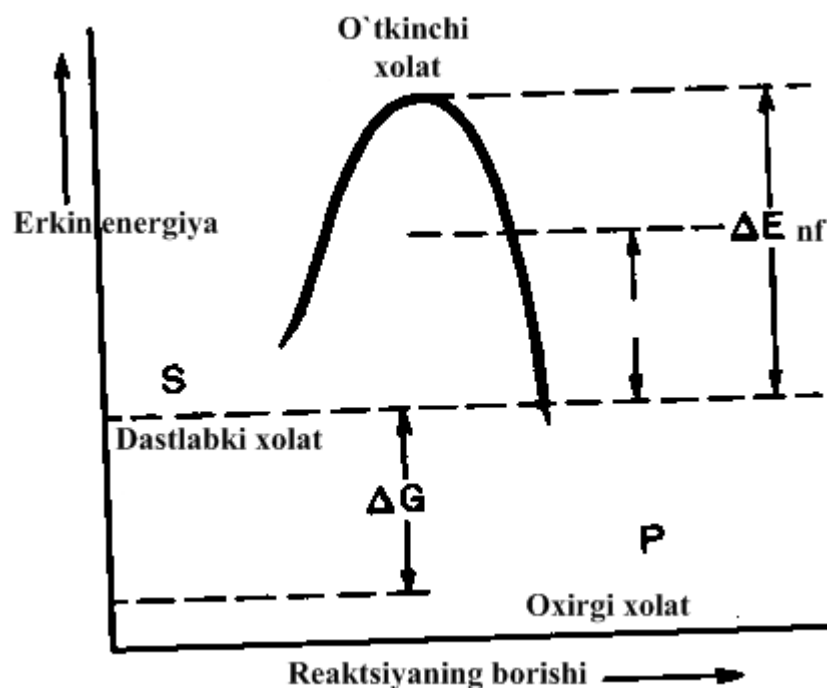
Ferment substrat bilan juda qisqa muddatda o'zaro ta'sirlanadi. Ferment-substrat kompleksini hosil bo'lishini D. Keylin va B. CHanslar isbotlashgan edi. Hozirgi kunda kinetikaning amaliy va matematik uslublari, kimyoviy reaksiyalarning termodinamikasi va statistik mexanikasi qator fermentativ reaksiyalarning kinetik va termodinamik ko'rsatkichlarini, tezlik konstantasi va muvozanat holatini yuzaga kelishini aniqlash imkonini beradi.

Ferment-substrat kompleksini hosil bo'lishida vodorod bog'lar, elektrostatik va gidrofob ta'sirlanishlar, shuningdek qator holatlarda kovalent va koordinasion bog'lanishlar ishtirok etadi.

Katalitik jarayonda ferment va substratning o'zaro bir-biriga ani? ravishda mos kelishi, shuningdek bu xildagi moslikning termodinamik va katalitik jihatdan ustunligi muhim ahamiyatga ega.

Boshqa katalizatorlar kabi fermentlarning ham termodinamik nuqtai nazardan reaksiyani jadallashtirish bilan bog'liq bo'lgan xususiyati o'zaro ta'sirlanuvchi moddalarni faollanish energiyasini kamaytirish evaziga yuz beradi. Odatda faollanish energiyasi kattaligini Djoul/mol hisobida (Dj/mol) belgilanadi. Faollanish energiyasi deb muayyan temperaturada mol miqdorda olingan moddaning hamma molekularini faollashgan holatga o'tkazish tushuniladi. Boshqacha qilib aytganda, bunda termodinamik ehtimollik mavjud bo'lishiga qaramay, dastlabki kimyoviy reaksiyani boshlanib ketishi uchun etarli bo'lgan energiyaning bo'lishini zarurligi e'tirof etiladi.

Ferment faollashgan molekularning sonini oshirish evaziga faollanish energiyasini kamaytiradi. Natijada bu molekularlar past energetik darajada ham reaksiyaga kirishish qobiliyatiga ega bo'lib qoladi.



Rasm 4. Fermentativ va nofermentativ kimyoviy reaksiyalarning energetik mexanizmlari.

S - dastlabki substrat;

R – so`ngi mahsulot;

ΔE_{nf} -nofermentativ reaksiyaning faollashtirish energiyasi.

ΔE_f - fermentativ reaksiyaning faollashtirish energiyasi.

ΔG - erkin energiyaning andozaviy (standart) o`zgarishi.

Rasm 4 dan ko`rinib turibdiki, fermentativ reaksiyaning faollashtirish energiyasi ancha past bo`ladi.

SHuni alohida qayd etish joyizki, ferment tomonidan katalizlanuvchi reaksiya ham, katalizlanmovchi reaksiya ham, uning qay tarzda o`tishi yo`lidan qat`iy nazar birxil erkin energiyaning andozaviy o`zgarish kattaligi (ΔG)ga ega bo`ladi.

Matematik jihatdan muvozanat konstantasi va reaksiyaga kiruvchi moddalarning erkin energiyasini o`zgarishi: $\Delta G = -R \Delta G = -R \cdot T \cdot \ln K$. $T \cdot \ln K$ tenglama orqali ifodalanadi, bu erda R-gazlar uchun doimiy kattalik; T-absolyut (mutloq) temperatura; $\ln K$ -muvozanat konstantasini natural lagorifmi; ΔG -erkin energiyaning standart o`zgarishi (Dj/mol). Tenglamadan ko`rinib turibdiki, kattaligi yuqori bo`lganda ΔG manfiy bo`ladi.

Agar K ning katalitik ko`rsatkichi kam bo`lsa, ΔG musbat bo`ladi. Agar muvozanat konstantasi birga teng bo`lsa, erkin energiyani o`zgarishi 0 ga teng bo`ladi va reaksiya osongina qaytariladi.

Masalan, glyukoza 1-fosfatining glyukoza-6-fosfatga aylanishini katalizlovchi ferment fosfoglyukomutazaning muvozanat koeffisienti va erkin energiya kataligini aniqlashda kimyoviy muvozanatga erishgan paytda glyukoza-6-fosfat va glyukoza-1-fosfatlarning reaksiyon muhitdagi miqdorlari aniqlanadi. Muvozanat paytida glyukoza-6-fosfatining miqdori glyukoza-1-fosfatiga nisbatan 19 marta ko`p bo`ladi. Bundan muvozanat koeffisienti K 19 ga teng ekanligi ma`lum bo`ladi. Bu raqamni tenglamaga joylashtirsak $\Delta S = -7329$ Dj/mol kelib chiqadi. Bundan ko`rinib, turibdiki 1 mol glyukoza-1-fosfatni 25⁰S da glyukoza-6-fosfatga aylanishida tizimdagi erkin energiyaning kamayishi 7329 Djni tashkil qiladi.

Fermentativ reaksiyalar kinetikasi

Mixaelis-Menten tenglamasi.

Hayotning namoyon bo`lishini tavsifi tirik organizmlarning kinetik boshqarilishini ta`minlash kabi ajoyib xususiyati hisoblanadi va bu jarayon termodinamik muvozanatga erishishni

to'sib qo'yish orqali yuzaga chiqadi. Fermentativ kinetika-reaksiyaga kirishuvchi modda (ferment, substrat) larning kimyoviy tabiati va ularning ta'sirlanish sharoitlari (konsentrasiya, muhitning rN i, harorat, faollashtiruvchilar yoki ingibirlovchilar mavjudligi) ning reaksiya tezligiga ta'sir etish qonuniyatlarini o'rganadi. Fermentativ reaksiyalar kinetikasini o'rganishdan maqsad ferment ta'siri mexanizmlarini tushunishni ta'minlovchi ma'lumotlarga ega bo'lishdan iborat.

Kimyoviy reaksiyalar kinetikasining umumiy tamoillari fermentativ reaksiyalar uchun ham xosdir.

Ma'lumki, har qanday kimyoviy reaksiya termodinamik muvozanat konstantasi bilan tavsiflanadi. U tizim tomonidan kimyoviy muvozanat holatiga kelishga tegishli kattalikdan iborat bo'lib, k_m orqali belgilanadi. Reaksiya uchun muvozanat konstantasi reaksiya natijasida hosil bo'ladigan moddalar ko'paytmasining reaksiyaga kirishayotgan moddalar ko'paytmasiga nisbatiga teng bo'ladi:



Odatda muvozanat konstantasi kattaligini topishda to'g'ri reaksiya konstantasi (K_{+1}) ni teskari reaksiya konstantasi (K_{-1}) nisbati

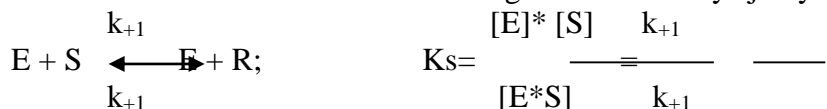
formulasi: $K_m = \frac{K_{+1}}{K_{-1}}$ dan foydalaniladi.

Muvozanat paytida kimyoviy reaksiya tezligi $V_{+1} = [A]^* [V]$ ga teskari reaksiya tezligi $V_{-1} = K_{-1}[S]^* [D]$ ga ya'ni $V_{+1} = V_{-1}$ ga teng bo'ladi.

O'zaro mos holda: $K_{+1}[A]^* [V] = K_{-1}[S]^* [D]$ yoki $= \frac{K_{+1} [S]^* [D]}{K_{-1} [A]^* [V]}$;

bu erdan $\frac{K_{+1}}{K_{-1}} = K_m$ kelib chiqadi.

SHunday qilib, reaksiyaning muvozanat konstantasi to'g'ri reaksiya konstantasini teskari reaksiya konstantasiga bo'lgan nisbatiga teng. Muvozanat konstantasiga teskari kattalikni substrat konstantasi deb yoki fermentativ reaksiya holatida ferment-substrat kompleksini desosiasiya konstantasi deb nomlanadi va K_s bilan belgilanadi. Reaksiya jarayonida esa:



orqali ifolanadi, ya'ni K_s ferment va substratning ferment-substrat kompleksiga bo'lgan nisbati yoki teskari reaksiya tezligi konstantasini to'g'ri reaksiya konstantasiga bo'lgan nisbat kattaligi bilan aniqlanadi.

SHuni qayd etish joyizki, K_s konstantasi substrat va fermentning kimyoviy tabiatiga va ularning o'zaro mos kelishiga bog'liq. K_s konstanta kattaligi qancha kichik bo'lsa, fermentning substratga mos kelishi shuncha yuqori bo'ladi.

Fermentativ reaksiyalarni o'rganish jarayonida (odatdagi kimyoviy reaksiyalardan farqli) bu reaksiyalarda fermentni substratga to'yinish holatiga bog'liq xususiyatlarini e'tiborga olish lozim. Substrat konsentrasiyasi past bo'lgan paytda reaksiya tezligi substrat konsentrasiyasiga bog'liq bo'lib, deyarli to'g'ri chiziqli o'zgarishga ega bo'ladi va birinchi tartibli kinetika qonuniga bo'ysinadi (Rasm5). Demak $S \rightarrow P$ reaksiya tezligi substrat konsentrasiyasi (S)ga to'g'ri proporsional va vaqtning har qanday ulushi (t) da quyidagi tenglama bilan aniqlanadi.

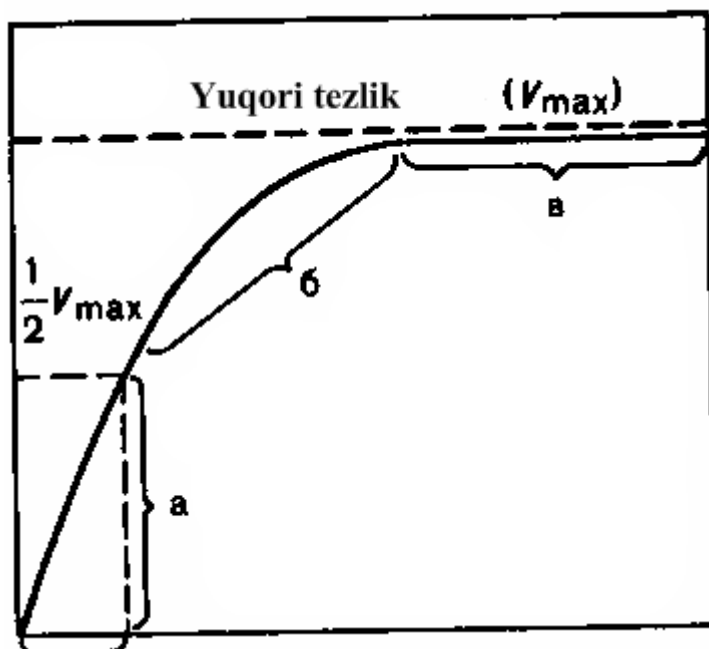


$$V = \frac{d[E^*S]}{dt} = K^1 [S]$$

Bu erda: [S] - substratning molyar konsentratsiyasi;

$-d[S]/dt$ - substrat konsentratsiyasining kamayish tezligi;

K^1 - muayyan sharoitda vaqt birligi (min^{-1} yoki s^{-1}) ni o'lchamiga oid reaksiya tezligi konstantasi.



Substrat konsentratsiyasi.

Rasm 5. Ferment konsentratsiyasini doimiylik sharoitida fermentativ reaksiya tezligini substrat konsentratsiyasiga bog'liqligiga oid nazariy grafik.

a) - birinchi tartibli reaksiya ($[S] < K_m$ bo'lganda reaksiya tezligi substrat konsentratsiyasiga to'g'ri proporsional)

b) - aralash tartibli reaksiya;

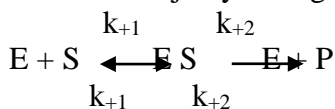
v) - nol tartibli reaksiya; bunda $v = V_{max}$ ga teng bo'lib, reaksiya tezligi substrat konsentratsiyasiga bog'liq emas. Substrat konsentratsiyasi yuqori bo'lganda reaksiya tezligi maksimal bo'lib, substrat konsentratsiyasiga [S]ga bog'liq bo'lmay qoladi va doimiy ko'rsatkichga aylanadi. Bu holatda reaksiya nol tartibli kinetikaga bo'ysinadi:

$V = K^1$ (fermentning substrat bilan to'liq to'yinishi) va uning tezligi to'liqicha ferment konsentratsiyasi bilan aniqlanadi.

Bundan tashqari ikkinchi tartibli reaksiya ham farqlanadi, bu reaksiyaning tezligi reaksiyaga kirishuvchi moddalar konsentratsiyalari yig'indisiga to'g'ri proporsional bo'ladi. Ma'lum sharoitlarda proporsionallikning buzilishi yuz berganda aralash tartibli reaksiyalarni nazarda tutish lozim bo'ladi. (rasm b)

L. Mixaelis va M. Mentenlar fermentning substrat bilan to'yinish xususiyatini o'rganish natijasida fermentativ kinetika nazariyasini ishlab chiqdilar.

Ular fermentativ jarayonning kechishini:



tarzda, ya'ni ferment E substrat S bilan o'zaro ta'sirlanib oraliq kompleks ES hosil qiladi va keyinchalik u erkin ferment va reaksiya mahsuloti R ga aylanadi deb faraz qilishdi. Massalar ta'siri qonuni asosida bu farazga matematik ishlov berish asosida tenglama keltirib chiqarilgan bo'lib, bu tenglamani Mixaelis-Menten tenglamasi deb nomlanadi. Bu tenglama:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_s + [S]}$$

tarzida ifodalanadi

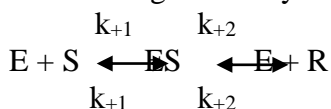
Bu erda V-substrat ([S]) ning muayyan konsentrasiyasida kuzatiladigan reaksiya tezligi;

K_s -ferment - substrat kompleksining dissosiasiya konstantasi (mol/l);

V_{\max} -fermentning substrat bilan to'liq to'yinish sharoitidagi reaksiya tezligi;

Mixaelis-Menten tenglamasiga muvofiq substratning yuqori konsentrasiyasi K_s kattaligi ko'rsatkichi past bo'lganda reaksiya tezligi maksimal bo'ladi, ya'ni: V_{\max} (nol tartibli reaksiya); substrat konsentrasiyasi past bo'lganda, aksincha har bir muayyan vaqt birligida reaksiya tezligi substrat konsentrasiyasiga to'g'ri proporsional (birinchi tartibli reaksiya) bo'ladi.

SHu narsani alohida ta'kidlash joyizki, Mixaelis-Menten tenglamasi fermentativ jarayon tufayli hosil bo'lgan reaksiya mahsulotini reaksiya tezligiga ta'sirini hisobga olmaydi, masalan:



reaksiyasi biroz cheklangan tavsifga ega. SHu sababli tenglamani biroz takomillashtirishga harakat qilingan. SHu yo'sinda Briggs-Xolleyn tenglamasi taklif qilindi:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

Bu erda K_m -Mixaelis konstantasi bo'lib, tajriba yo'li bilan aniqlanadigan kattalik hisoblanadi.

U quyidagicha ifodalanadi:

$$K_m = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} + \frac{k_{+2}}{k_{-2}}$$

Sur'atda ES kompleksining ikki yo'nalishda (dastlabki E va S va so'ngi mahsulot E va R hosil bo'lish) parchalanish tezligi konstantalari keltirilgan.

$\frac{k_{-1}}{k_{+1}}$ nisbat ferment substrat kompleksi K_s ni dissosiasiya konstantasini ifodalaydi, unda:

$$K_m = K_s + \frac{k_{+2}}{k_{-2}}$$

kelib chiqadi.

Bundan Mixaelis konstantasi hamisha ferment-substrat dissosiasiyasi konstantasi K_s dan k_{+2}

$\frac{k_{+2}}{k_{-2}}$ katalitikka oshiq ekanligi ma'lum bo'ladi.

Odatda K_m ga tegishli miqdoriy ko'rsatkichni aniqlashda fermentativ reaksiya tezligi V maksimal daraja V_{\max} ni yarmini tashkil qiladigan konsentrasiya ya'ni agar

$$V = \frac{1}{2} V_{\max}$$

ni topilib Briggs-Xoldeyn tenglamasiga V qiymati

qo'yiladi, hamda:

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

keltirib chiqariladi.

Tenglamani ikki tomonini ham V_{max} ga taqsim qilib:

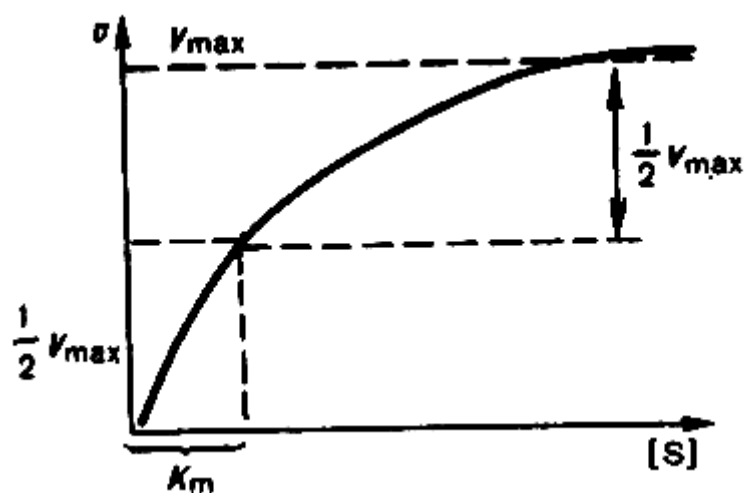
$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \text{ yoki } K_m + [S] = 2[S] \text{ tenglama hosil qilinadi.}$$

Buerdan $K_m = [S]$ kelib chiqadi.

SHunday qilib, Mixaelis konstantasi muayyan fermentativ reaksiyada reaksiya tezligi maksimal tezlikning yarmini tashkil qiladigan tezlikni ta'minlovchi substrat konsentrasiyasi (mol/l)ga teng bo'ladi.

Tajriba yo'li bilan ko'p fermentativ reaksiyalar uchun K_m ning kattaligi aniqlangan bo'lib, u 10^{-2} dan 10^{-5} M gacha bo'lgan ko'rsatkichni tashkil qiladi.

K_m kattaligini aniqlash fermentlar faolligiga effektorlar ta'siri mexanizmlarini aniqlashda muhim ahamiyatga ega bo'ladi. Mixaelis konstantasini rasm 6 da keltirilgan grafikka muvofiq hisoblash mumkin.



6-Rasm Mixaelis-Menten tenglamasini egri chizig'i. Substrat konsentrasiyasiga bog'liq xolda ferment tomonidan katalizlanadigan reaksiyaning boshlang'ich tezligini giperbolik bog'liqligini rasmdan ko'rinib turibdiki, a, b, s dagi maksimal tezlikning yarmiga teng keladigan bo'lagi K_m ni ifodalaydi.

Eksperimental ma'lumotlar bo'yicha yanada qulayroq bo'lgan grafik tuzish uchun G. Laynuiver va D. Berklar Briggs-Xoldeyn tenglamasini ikkilamchi teskari kattalik uslubi asosida qayta ko'rib chiqdilar. Ularning tamoiliga muvofiq agar ikkita kattalik o'rtasida muvozanat bo'lsa, unda teskari kattaliklar ham o'zaro teng bo'ladi. Xususan agar:

$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \text{ bo'lsa, } V = \frac{1}{\frac{K_m}{V_{max} [S]} + \frac{1}{V_{max} [S]}}$$

yoki $\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max} [S]} + \frac{1}{V_{max} [S]}$ tarzda yozish mumkin.

Tenglamaga qayta ishlov berilsa u:
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max} [S]} + \frac{1}{V_{max} [S]}$$

shaklga kiradi;

So`ngi tenglama Layniuver-Berk tenglamasi deb yuritiladi. Bu tenglama to`g`ri chiziqli $u = a * x + v$ dir. Agar shu tenglama asosida $1/[S]$ (x) dan $1/v$ (u) gacha bo`lgan koordinatlar bo`yicha grafik tuzilsa unda to`g`ri chiziqli bo`ladi, uning tangens chizig`i

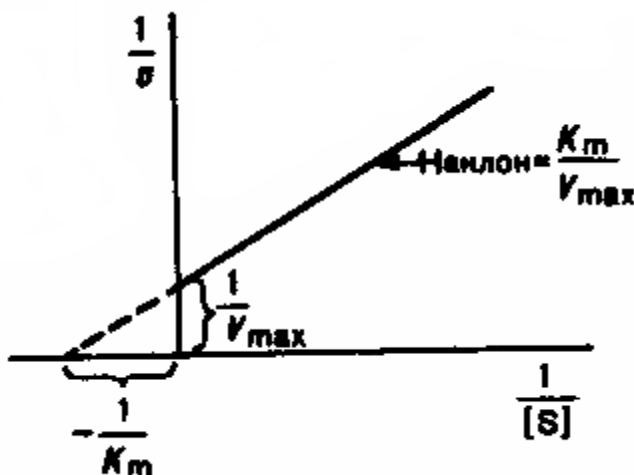
$$\frac{K_m}{V_{max}} \text{ kattaligiga ega bo`ladi; ordinata o`qidan}$$

to`g`ri o`tadigan bo`lagi

$$\frac{1}{V_{max}} \text{ (maksimal tezlikning teskari kattaligi)}$$

ni bildiradi; agar ordinat bo`ylab to`g`ri chiziqli davom etdirilsa, unda absiss o`qida Mixaelis konstantasini teskari kattaligiga to`g`ri keladigan

$$\left(\frac{1}{K_m}\right) \text{ ni ko`rish mumkin bo`ladi (rasm7).}$$



Layniuver - Berk grafi.

Layniuver - Berk grafi asosida V_{max} va K_m ni aniqlash to`g`ri koordinatlar grafi orqali aniqlashga qaratilgan ancha aniq ravishda amalga oshirilishi tufayli enzimologiyaning zamonaviy rivojlanish bosqichida undan kengroq foydalanilmoqda.

4-MA`RUZA

Mavzu: Fermentlar faolligining boshqarilishi. Fermentlarning to`qima va xujayralar lokalizatsiyasi (4 soat)

Fermentlarning asosiy xossalari.

Fermentlarga anorganik katalizatorlarga tegishli bo`lgan uch xil me`yor ham xos bo`ladi. Birinchidan, ular reaksiyadan keyin yana yangidan substratning yangi molekulari bilan reaksiyaga kirishi mumkin. Ikkinchidan, fermentlar juda kichik konsentrsiyalarda (masalan 10 minutda $37^{\circ}S$ da) bir molekula rennin 106 molekula sut kazenogenini ivitishi mumkin.

Uchinchidan, katalizatorlar-faqat reaksiya tezligini oshiradi. Bunda tizim termodinamik muvozanatga yaqinlashadi, lekin muvozanat nuqtasini siljitmaydi. YUqori darajadagi muvozanat konstantasi va G ning musbat kattaligiga ega bo`lgan reaksiyalar ekzergonik reaksiyalar deyiladi. Past darajadagi muvozanat konstantasi va G ning manfiy kattaligiga ega bo`lgan reaksiyalar endergonik reaksiyalar deyiladi. Bu reaksiyalarning boshlanishi va borishi uchun tashqaridan

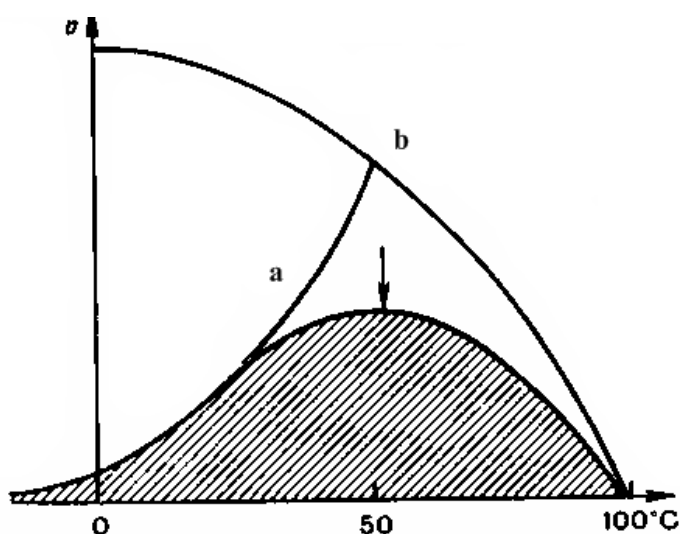
energiya oqimi kelib turishi lozim. Lekin tirik tizimlarda ekzergonik jarayonlar endergonik reaksiyalar bilan uyg'unlashib ketadi va ekzergonik reaksiyalar endergonik reaksiyalarni kerakli energiya bilan ta'minlab turadi.

Fermentlar, oqsil tabiatga ega bo'lganligi sababli anorganik katalizatorlardan farqlanuvchi qator xossalarga ega.

Fermentativ reaksiyalarning tezligi bir qancha sharoitlarga bog'liq. Masalan, reaksiya aralashmasidagi ferment va substrat konsentrasionalari, aktivator yoki ingibitor, kofaktorlar, kofermentlar, ion miqdori, optimal muhit (rN) va harorat me'yorida bo'lishi kerak. Yuqorida ferment va substratlarning konsentrasionalari, kofaktorlar va kofermentlarga oid fikrlar bayon etilganligi tufayli fermentlarning termolabilligi, ularning faolligiga haroratning ta'siri va ularning maxsusligiga oid xossalari ushbu bobda ko'rib chiqiladi.

FERMENTLARNING TERMOLABILIGI.

Kimyoviy reaksiyalarning tezligi haroratga bog'liq, shu sababli fermentlar tomonidan katalizlanadigan reaksiyalar haroratning ko'tarilishi va pasayishiga juda sezgir bo'ladi. Kimyoviy reaksiyaning tezligi haroratni 100 ga oshirganda ikki marta oshadi. Lekin fermentning oqsil tabiatga ega bo'lganligi uchun issiqlik tufayli yuzaga chiqadigan denaturasiya fermentning samarali konsentrasiyasini pasaytiradi va unga mos holda reaksiya tezligi pasayadi. Kimyoviy kinetika nazariyasiga binoan 45-50^oS dan oshmagan taqdirdagina fermentativ reaksiya tezligi oshadi. haroratni 50^oS dan oshirilganda oqsil fermentning issiqlikdan denaturasiylanish natijasida fermentativ jarayonning susaya borishi, haroratning yanada oshirilishida esa bu jarayonning tamoman to'xtab qolishi yuz beradi (rasm 8).



Rasm 8. Ferment tomonidan katalizlanadigan reaksiya tezligiga haroratning ta'siri.

A – haroratning funktsiya sifatida reaksiya tezligini oshirishga ta'sir etish samarasi.

B – oqsil – ferment denaturasiyasining funktsiya sifatida reaksiya tezligini pasayishigata'sir etish samarasi (strelka optimum haroratni bildiriladi).

SHunday qilib, fermentarning anorganik katalizatorlardan farqli jihati Termolabiligi yoki haroratning oshirilishiga sezgirligi ularni o'ziga xos tavsiflovchi jihati hisoblanadi. haroratni 100^oS gacha ko'tarilganda hamma fermentlar o'zining faolligini yo'qotadi (bu qoidadan mustasno sifatida aytish joizki, mushak fermenti miokinaza 100^oS gacha qizdirilganda ham faolligi saqlanadi).

Issiq qonli hayvonlarning dearli ko'pchiligi uchun fermentlarning maksimal faolligi 40^oS da namoyon bo'ladi. Past tempraturada (0^oS va undan past) fermentlarning odatda faolligi 0^oS gacha pasayishida ular parchalanmaydi.

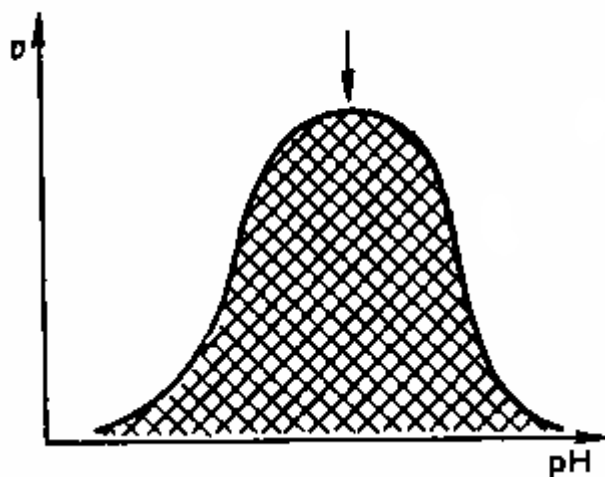
SHuni yana alohida qayd qilish joizki, fermentlarning termolabilligiga substratning

konsentrasiyasi muhitning rN ko`rsatkichi va boshqa omillar ham ta`sir qiladi.

FERMENTLAR FAOLLIGIGA pH NING TA`SIRI.

Odatda fermentlarning juda ham muhitning tor doiradagi vodorod ioni konsentrasiyasi chegarasida maksimal faolikni namoyon qiladi. Evolyusiya jaranida hayvon to`qimalaridagi fiziologik nuqtai nazardan muhitning o`zgarish chegaralari rN 6,0-8,0 chegaralari shakllangan. Lekin hayvon organizmida undan yuqori va past rN ko`rsatkichga ega bo`lgan organik to`qimalar ham uchraydi.

Agar fermentlar faolligini grafik tarzda ifodalaydigan bo`lsak, egri chiziqning shakli qo`ng`iroqqa uxshash ko`rinishni oladi (rasm-9).



Rasm 9. Ferment tomonidan katalizlanadigan reaksiya tezligiga muhit rN ni ta`siri (sirelka optimum rN ni bildiradi). Odatda har qanday fermentning faoligiga muhit rN ni ta`siri o`rganilganda haroratning va substrat konsentrasiyasining optimum bo`lishi ta`minlanadi va shu yo`l bilan optimum rN aniqlanadi. SHu yo`sinda qator fermentlarning rN optimumlari aniqlangan. Bu ko`rsatkichlarni tashkil qiladi.

1	Pepsin uchun	1,5-2,5
2	Katepsin uchun	4,5-5,0
3	Amilaza (maysa) uchun	4,9-5,2
4	Saxaroza (ichak) uchun	5,8-6,2
5	Amilaza (so`lak) uchun	6,8-7,0
6	Katalaza uchun	6,8-7,0
7	Ureaza uchun	7,0-7,2
8	Pankreatiklipaza uchun	7,0-8,5
9	Tripsin uchun	7,5-8,5
10	Arginaza uchun	9,5-10,0

Pepsin tarkibida erkin NSI bo`lgan oshqozon shirasi tarkibida uchraganligi uchun u o`ta nordon muhitda maksimal faollik ko`rsatadi va rN 6,0 bo`lganda faoligi umuman yo`qoladi. Boshqa tomondan aytish joizki, arginazaning eksperimental yo`l bilan aniqlagan rN optimum 9,5-10,0 ga ega bo`lgani holda jigar hujayralaridan bo`nday ishqoriy muhitning bo`lmasligi ma`lum.

Demak shunga asoslanib arginazaning in vivo sharoitidagi faollik ko`rsatuvi aftidan o`zining optimal rN ko`rsatkichida amalga oshirilmaydi degan xulosaga kelsa bo`ladi.

Zamonaviy fan yutuqlariga tayangan xolda fikr yuritiladigan bo'lsak, ferment molekulasiga muhitning rN ni ta'siri uning tarkibidagi kislotaga va ishqoriy guruxlar (dikarbon kislotalarning

4.3. FERMENTLARNING MAXSUSLIGI

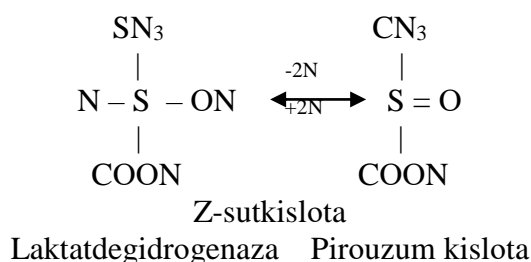
Fermentlarning maxsusligi oqsil molekulasining tuzilishiga, uning ma'lum qismlari bilan substratning tegishi guruhlari o'rtasida kimyoviy aloqalar o'rnatilishiga bog'liq. Fermentlarning maxsuslik xususiyatlari ancha nozik bo'lib, ular chuqur ma'noga ega. Har bir ferment faqat ma'lum substratga (chegarali substratlar guruhiga) yoki molekulada kimyoviy bog'ning ma'lum xiliga ta'sir etadi. Ferment substratga kalit qulfga tushganday muvofiq kelishi kerak.

Fermentlarning maxsuslik xususiyatlari stereokimyoviy, nisbiy guruh, absolyut (mutloq) xillarini farqlash mumkin.

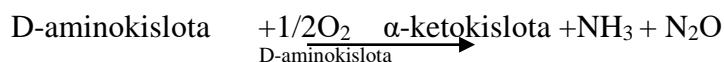
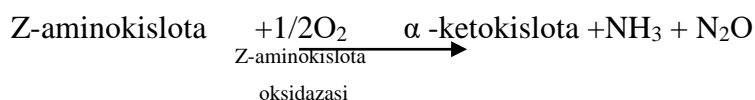
4.3.1. STEREOKIMYOVIY MAXSUSLIK.

Organizmida sintezlanadigan yoki metabolitik almashinuvlarda parchalanadigan moddalarning aksari qismi optik faollikka ega bo'lib, ikki xil stereoizomer shaklidan, odatda faqat bittasigina tabiiy makromolekulalar tarkibida uchraydi hamda barcha jarayonlarda ishtirok etadi. Masalan, organizmdan makromolekulalar tarkibida karbonsuvlardan d-qatorga, aminokislotalardan Z-qatorga mansub bo'lgan izomerlar uchraydi. SHu bois enzimlarning ko'pchiligi ikkita optik izomerdan faqat bittasini almashinuviga oid reaksiyani katalizlaydi.

Bu xodisani stereokimyoviy maxsuslik deyiladi. Bunga yaqqol misol tariqasida mushaklarda uchraydigan laktat dehidrogenaza fermenti faqat uni Z-izomerini oksidlantirib prouzumkislotagacha oksidlashini katalizlanishi keltirib o'tish mumkin:



Xuddi shuningdek organizmda uchraydigan Z-aminokislotani α -ketokislotagacha D-alitokislotaga oksidazasi D-aminokislotani α -ketokislotagacha oksidalanish reaksiyalari quyidagicha bo'lib o'tadi:



Bu yuqorida keltirilgan uchta oksidaza reaksiya teskari yo'nalishida borishini katalizlanganda ham o'zaro mos xolda aynan Z-laktat, Z- va D-aminokislotalar hosil bo'ladi.

Agar biz har bir birikmani ma'lum bog' orqali birikkan ikki qism A va V dan iborat deb tasavvur qilib, stereokimyoviy maxsuslikni gidrolitik parchalanish reaksiya tenglamasini soddalashtirib quyidagicha yozishimiz mumkin bo'ladi:



SHu birikmaga ta'sir etadigan enzim molekulaning uta elementi (A, V va maxsus bog`) ning bittasiga, ikkitasiga yoki uchala qismiga nisbatan ham maxsuslik xususiyatini namoyon qilishi mumkin.

4.3.2. NISBIY MAXSUSLIK

Agar ferment faqat kimyoviy bog`ga nisbatan maxsuslik xususiyatiga ega bo`lsa uning ta`siri uchun yuqorida keltirilgan A va V elementlarning tavsifi hal qiluvchi ahamiyatga ega bo`lmaydi. Ferment ma`lum kimyoviy boqni o`zida mujassam qilingan moddalarning xilma-xil guruhlariga ta'sir eta oladi. Masalan, liraza va esterazalar

$$\begin{array}{c} \parallel \\ R - S - O - R^1 \end{array}$$
 bog`iga ega bo`lgan yog` moddalari va xilma-xil murakkab eferlarni parchalay oladi.

Xuddi shuningdek peptidazalar

$$\begin{array}{c} \parallel \quad \parallel \\ R - S - N - R^1 \end{array}$$
 bog`ga ega bo`lgan oqsillar va peptidlarni glyukozidazalar esa $R - O - R^1$ bog`ga ega bo`lgan polisaxarid va oligasaxaridlarni, glikozidlarning gidrolizinkatalizlaydi.

Maxsuslikning bu xil nisbiy maxsuslik deb yuritiladi. SHu bilan birga peptidazalar, glyukozidazalar va esterazalar orasida ham peptid, glikozid va murakkab eferlarning ayrim vakillariga tanlab ta`siretadigan tor doradagi maxsuslikka ega bo`lgan vakillari ham uchraydi. Ammo bu ferment ma`lum substratga yuqori faollikda ta'sir etishi bilan birga substratga kimyoviy jihatdan o`xshash guruhga mansub boshqa birikmalarga ham biroz substratda katalitik ta'sir ko`rsataoladi.

4.3.3. GURUX MAXSUSLIGI.

Ko`p xollarda ferment ta'sir etish uchun tegishi bog`dan tashqari, yana A yoki V ning bita qat`iy ravishda ma`lum radikal yoki qoldiq bo`lishi mumkin. Bu xil maxsuslikni guruh maxsusligi deyiladi.

Bu xil maxsuslikka qator glyukozidazalar misolbo`lishi mumkin. Masalan, α -glyukozidazalar ta'sir etish uchun glikozid molekulasidan karbonsuv komponenti albatta Z-glyukoza bo`lib, u orqali efir bog`i ikkinchi radikalga bog`langan bo`lishi kerak:

Formula.

Demak α -glyukozidazalar α -glyukozidlar guruxining barcha vakillarini parchalaydi. Bunda substratda albatta α -glyukozid bog` bo`lishi lozim, α -glyukozani boshqa karbonsuv α -galaktoza yoki β -glyukozabilan almashtirilsa uning ta`siri bo`lmaydi.

4.3.4. ABSOLYUT (MUTLOQ) MAXSUSLIK.

Maxsuslikning eng qattiy va eng ko`p tarqalgan xili mutloq maxsuslikdir. Bu xil maxsuslikka ega bo`lgan ferment faqat bittagina substratga ta'sir etadi va substrat molekulasida ro`y bergan ozgina o`zgarish ham uning faolligini yo`qotishga olib keladi. Jigarda uchraydigan arginaza bunga yaqqolmisol bo`la oladi. Uning substrati Z-arginin bo`ib, ferment bu aminokislotaning boshqa xosilalariga umuman ta'sir ko`rsatmaydi. Ular quyidagilar:

Z-arginin

α - N- metil arginin

Arginaza tomonidan argininning ta`sirlanishi quyidagi tenglama asosida amalga oshiriladi:

Xuddi shu kabi ureaza ham mutloq maxsuslikka ega bo`lib, arginin gidrolizadan hosil bo`lgan siydikchilgina ta'sir etib boshqa xosilalariga ta'sir etmaydi.

Ureaza siydikchilni gidrolitik yo`l bilan parchalaydi:

Oksidlovchi-qaytaruvchi fermentlarning muhim vakli suksinatdegidrogenaza ham mutloq maxsusikka ega. U faqat qahrabo kislotani degidridlaydi

4.4. FERMENTLAR FAOLLIGIGA TA`SIR ETUVCHI OMILLAR.

Fermentlar katalizlaydigan reaksiyalarning tezligini belgilovchi bir qancha omillar farqlanadi. Ma`lumki, har qanday kimyoviy reaksiyaning tezligi vaqt o`tishi bilan pasayadi, lekin fermentativ reaksiyalarning tezligini ifodalovchi egri chiziq gomogen reaksiyalarnikidan farqlanadi (rasm 10).

Vaqt birligida fermentativ reaksiya tezligining pasayishi:

- reaksiya maxsulotining ferment faolligiga ko`rsatadigan bo`g`uvchi ta`siri;
- fermentning substrat bilan to`yininishini susayishi (reaksiya ketishi jarayonida substrat konsentrasiyasi pasayganligi uchun);
- muayyan harorat va muhitning rN ko`rsatkichida fermentning qisman faolsizlanishiga muvofiq yuzaga chiqadi.

Bundan tashqari teskari reaksiyaning ta`siri tufayli fermentativ reaksiya maxsuloti konsentrasiyasining oshib ketishi ham reaksiya tezligining susayishiga sababchi bo`ladi.

Bu xususiyatlarni e`tiborga olib, to`qima va biologik suyuqliklarda fermentativ reaksiyalar tezligini aniqlashda bu reaksiyalarning tezligi to`g`ri chiziq bo`lgan xolatdagi reaksiyaning boshlang`ich tezligi aniqlanadi (jumladan fermentni to`yintirish uchun kerak bo`lgan substratning konsentrasiyasini ancha yuqori darajasida ham).

4.4.1. FERMENTATIV REAKSIYALAR TEZLIGIGA SUBSTRAT VA FERMENT KONSENTRASIYALARINING TA`SIRI.

Yuqorida keltirilgan ma`lumotlar bo`yicha aniq ravishda aytish mumkinki, fermentativ reaksiya tezligini aniqlashda muhim omillardan biri muhitdagi substrat konsentrasiyasi hisoblanadi. Fermentning doimiy konsentrasiyasida reaksiya tezligi asta-sekin oshib boradi va substrat miqdorini navbatdagi bosqichda oshirilishi reaksiya tezligiga ta`sir etmay qolganda u maksimumga etadi. Bu holatda substrat muhitda etarli miqdorda mavjud bo`lib, reaksiya tezligini chegaralab to`sib turuvchi omil bu xolatda ferment konsentrasiyasi hisoblanadi. Har qanday fermentativ reaksiyaning tezligi bevosita ferment konsentrasiyasiga bog`liq. Rasm 11 da muhitda substratning to`yintirilgan konsentrasiyasi mavjudligi sharoitida reaksiya tezligi bilan ferment miqdorini oshaborishi o`rtasidagi bevosita bog`lik ko`rsatkichlari o`z ifodasini topgan.

Bu kattaliklar o`rtasidagi o`zaro chiziqli bog`liqlikning mavjudligi reaksiya tezligi muhitdagi ferment konsentrasiyasiga to`g`ri proporsional ekanligini ko`rsatadi.

4.4.2. FERMENTLARNING FAOLLASHUVI VA INGIBIRLANISHI.

Fermentativ reaksiyalar tezligi, yani ferment faolligi muhitda faollovchi va ingibirlovchilarning mavjudligi bilan bog`liq. Ularning birinchilari reaksiya tezligini oshiradi va ba`zan uni modifikasiyalaydi, ikkinchilari reaksiyani to`sib qo`yadi. Kimyoviy moddalar orasida ferment faolligiga ta`sir etuvchi xilma-xil moddalar uchraydi. Masalan, xlorid kislotasi pepsinni, o`t kislotalari pankreatik lipazani faollashtiradi, ba`zi to`qima fermentlari (oksidektazalar, katepsinlar, arginaza), o`simliklardagi proteinazasi, pepsin va boshqalarni erkin SH-guruhi tutuvchi moddalar (glutation, sistein), yana boshqalarni esa vitamin S lar faollashtiradi.

Ko`p xolatlarda faollovchilar sifatida ikki va bir valentli metallarning ionlari ham ishtirok etadi. SHu narsa aniqlanganki, hozirgi kunda fanga ma`lum bo`lgan fermentlarning to`rt dan bir qismni katalitik faolligini namoyon bo`lishi uchun metallar ishtirok etishi zarur. Ko`p fermentlar metal ishtiroki bo`lmasa umuman faollikka ega bo`lmaydi.

Masalan, tarkibidan ruxni ajratib olinsa, karboangidraza fermentativ faollikni tamoman yoʻqotadi, bu ustiga bu ferment taʼsirini tiklash uchun ruxdan boshqa bironta metalni almashtirib boʻlmaydii. Yana shu xil fermentlar borki, ularni faoligini taʼminlash uchun qator metalar ishtirok etishi lozim, xususan, enolaza fermenti Mg^{2+} , Mn^{2+} , K^{+} ishtiroki faolanadi.

Quyida tarkibida metal ishtiroki shart boʻlgan ayrim fermentlarning roʻyxati keltirilgan:

1	Sitoxromlar	Fe
2	Katalaza	Fe
3	Peroksidaza	Fe
4	Triptofanoksidaza	Fe
5	Gomogentikinaza	Fe
6	Baʼzi peptidazalar	Co
7	Amilaza	Sa
8	Lipaza	Sa
9	Karboangidraza	Zn
10	Laktetdegidrogenaza	Zn
11	Uri kinaza	Zn
12	Karboksipeptidaza	Zn
13	Askorbatoksidaza	Si
14	Tirozinaza	Si
15	Fenoloksidaza	Si
16	Ksantinoksidaza	Mo
17	Nitratreduktaza	Mo
18	Aldegidoksidaza	Mo
19	Piruvatkarboksilaza	Mg
20	Fosfatazalar	Mg
21	Fosfoglyukokinaza	Mg
22	Arginaza	Mn
23	Fosfoglyukomutaza	Mn
24	Xolinesteraza	Mn

Anionlar toʻgʻrisida fikr yuritiladigan boʻlsa, fermentlarga ular odatda samarali taʼsir etmaydi. Taʼsir etgan taqdirda ham samarasi juda past boʻladi.

Bu qoidadan mustasno tarzda anionlar xususan xlor tomonidan faollanadigan pepsin, baʼzi oksireduktazalar, shuningdek kraxmalni gidrolizlaydigan soʻlak amilazasi, galogenlar bilan faollanadigan adenilatsiklazani misol tariqasida keltirish mumkin.

Fermentar katalizlaydigan reaksiyalarni qisman yoki toʻliq toʻsib qoʻyilishini taʼminlaydigan moddalarni ingibitorlar deb yuritiladi. YAqin oʻn yillar ichida fermentlarga nisbatan ingibitor sifatida taʼsir koʻrsatuvchi oqsil (polipeptid) tarkibiga ega boʻlgan antiferment (antienzim) larning mavjud ekanligi maʼlum boʻldi. SHu moddalar jumlasiga soyaning urugʻidan ajratib olingan tripsinning ingibitori va zardob antitripsinni kiritish mumkin. Ular tegishli fermentlar bilan qiyin dissosiasiyalanadigan komplekslar hosil qiladi. Baʼzan ingibitor murakkab oqsillar masalan, proteinkinaza va proteinfosfatazalar tarkibiga kiradi. Bu fermentlar tirik organizmlarda fosforlanish defosforlanish reaksiyalarini katalizlaydi. Lekin xanuzgacha muayyan antifermentlar haqiqiy ingibitorlarga kiradimi yoki ular boshqarilishida ishtirok etuvchi subbirliklarmi degan muammo oʻz echimini topmagan.

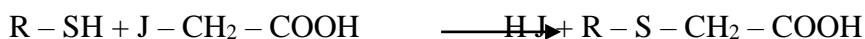
Ingibitorlarning katta guruhini maxsus xususiyatli ingibitorlar tashkil qiladi, ular bir yoki bir-biriga yaqin tuzilishga ega boʻlgan fermentlar guruhiga taʼsir eta. Bu ingibitorlarni oʻrganish muhim ahamiyatga ega. Birinchidan ingibitorlar fermentning faollik markazini tabiati shuningdek,

uning funksional guruhlari va kimyoviy ferment substrat kompleksi bog`lanishlariga aniqlik kiritadigan ma`lumotlarni o`rganish imkoniyatini beradi.

SHunday moddalar borki, ular ferment molekulasiga u yoki bu guruhni maxsus birikishi, hamda ferment faolligini tamoman to`xtatib qo`yishi mumkin.

Masalan, Iodasenat – J – CH₂ – COOH va uning amidi – J – CH₂ – CO – NH₂ va etil efiri O

||
– J – CH₂ – S – O – C₂H₅, paraxlormerkuribenzoat CI – Hg – C₂H₄ – COOH va boshqa reagentlar fermentlarning ba`zi SH- guruhlari bilan kimyoviy bog`lanish mumkin. Fermentning shu guruhlari kataliz uchun muhim ahamiyatga ega bo`lsa, muayyan ingibitorlarni reaksiyon muhitda kiritish ferment faolligini yo`qotishiga sababchi bo`ladi:



Qator fermentlar (xolin esteraza, tripsin, ximotripsin) ning faolligini fosfororganik birikmalar ta`sirida, masalan diizopropil ftor fosfat (DFF) ta`sirida fermentning faollik markazidagi serin gidroksili bilan birikishi natijasida to`xtab qoladi.

Ikkinchidan ingibitorlar enzimoogiyada fermentlarning xilma-xil shakllari va izofermentlarning tabiatini o`rganishda muhim ahamiyatga ega bo`ladi. Bu fermentlarning xilma-xil shakllari va izofermentlar faqat elektroforetik harakatchanligi bilan ham farqlanib holmay, balki u yoki bu ingibitorga nisbatan sezgirligi bilan ham farqlanar ekan.

Ko`p bosqichli metoboitik jarayonlarda kimyoviy reaksiyalar ketma-ketligi va unda ishtirok etadigan fermentlarning tabiati ingibitorlardan foydalanish orqali aniqlanadi.

Yodasetat, DFF va boshqa ingibitorlardan foydalanish orqali glikolitik yo`l bilan glyukozaning sut kislotasigacha parchalanishi to`liq o`rganilgan. Bu murakkab metabolitik jarayon o`n bir bosqichdan iborat, unda o`n bir xil ferment ishtirok etadi. O`n xil oraliq metabolitlar hosil bo`ladi. Bu reaksiyalarning ketma-ketligini o`rganishda aynan shu ingibitorlardan foydalanish qo`l keladi.

Ko`p toksinlar va zaharlarning organizmga ta`sir mexanizmini o`rganish ham fermentlarni ingibirlash yo`li bilan amalga oshiriladi. Masalan, sinil kislotaga ta`sirdakelib chiqadigan o`lim to`qimalardagi nafas olish fermentlari (sitoxromoksidaza) faolligini bo`g`ib qo`yilishi orqali yuzaga chiqar ekan.

Antibiotiklar, antivirus agentlar, o`smaga qarshi vositalar, insektisidlar, pestisidlar, genbisidlar va h.k.z. larning ta`sir etish mexanizmlari ular ta`sirida hujayra fermentlari faolligining bo`g`ib qo`yilishi (ingibirlanish) turadi. Fermentlarning ingibirlanishi tabiatda ham uchraydi va shu orqali bioboshquruv tizimini ro`yobga chiqaradi.

Ingibitorlashning qaytar va qaytmas xillari brligi ma`lum. Agar ingibitor molekulasini fermentning funksional guruhi barqaror o`zgarishini yoki modifikasiyasini keltirib chiqarsa, bu xil ingibirlanishni qaytmas deb yuritiladi.

Ko`pincha qaytar ingibirlanish uchuraydi va bu xil ingibirlanish u Mixaelis-Menten tenglamasi asosida miqdoriy tahlil o`tkazish imkonini beradi. O`z navbatida qator ingibirlanish ham ikki xil: raqobatli va raqobatsiz ingibirlanishga bo`linadi.

Raqobatli ingibirlanish – substratga o`xshash kimyoviy tuzilmaga ega bo`lgan lekin undan biroz farqli tuzilishdagi modda tomonidan keltirib chiqariladi.

Raqobatli ingibitorga mumtoz misol sifatida suksinatdehidrogenazani ingibitori malon kislotani keltirish mumkin. Bu ferment qahrobo kislotani fumar kislotagacha oksidlanishini katalizlaydi.

Malon kislotaga qahrobo kislotaga kirgan holda undan bitta – SN₂ – guruh kamligi bilan farq qiladi:

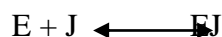
Tenglamadan ko`rinib turibdiki, malonat suksinatni fumaratga aylanishini to`sib qo`yadi, chunki ferment malonat bilan bog`lanib ferment ingibitor kompleksini hosil qiladi, hamda reaksiya

ingibitorsiz ketganda suksinatdan ko`chiriladigan vodorod malonat ko`chirilmaydi. SHu bilan birga aytish joizki, suksinat va malonat bunda fermentning faol markazi bo`yicha raqobatda bo`lganligi tufayli ferment faolligini susayish kattaligi ingibitorning konsentrasiyasiga bog`liq bo`lmay, bu ikki moddaning o`zaro nisbiy konsentrasiyasiga bog`liq bo`ladi.

Bu xil ingibitorlanishni ba`zan metabolitik antagonizm xilidagi ingibirlanish deb yuritiladi (rasm 12).

E-ferment; S-substrat, R va R₂-reaksiya maxsuloti; J-ingibitor.

Umumiy tarzda fermentning ingibitor bilan o`zaro ta`sirlanish reaksiyasini



Tenglama orqali ifodalash mumkin.

Hosil bo`lgan ferment ingibitor-kompleksi (EJ), ferment-substrat kompleksi (ES) kabi reaksiya maxsuloti hosil qilib parchalamaydi.

EJ-kompleksining dissosiasiya konstantasi yoki ingibitor konstantasi (K) ni Mixaelis-Menten nazariyasiga muvofiq to`g`ri va teskari reaksiyalar konstantasi sifatida ifodalash mumkin:

$$K_1 = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = \frac{[E] * [J]}{[EJ]}$$

YA`ni ingibitor konstantasi ferment va ingibitor konstantalarini ko`paytmasiga to`g`ri va EJ-kompleksi konsentrasiyasiga teskari proporsional bo`ladi.

Ferment faolligini raqobatli uslubda to`sib qo`yishdan tibbtyotda keng foydalanilmoqda. Masalan, ba`zi infeksiyon kasalliklarni davolashda sulfamid preparatlaridan foydalaniladi. Bu preparatlar paraminobenzat kislota (PABK) bilan tuzilmaviy jihatdan o`xshash bo`lib, bakterialar shu kislota bakteriyalar fermenti tarkibiy qismiga kiradigan Fol kislotani sintezi uchun foydalanar ekan. Bu o`xshashlik tufayli sulfanilamid bakteriya fermenti kompleksidagi PABK ni siqib chiqarib Fol kislotani sintezini to`sib qo`yadi, uning oqibatida esa ferment faoliyatini tamoman to`sib qo`yib bakteriyaning o`sishi to`xtab qoladi.

Raqobatsiz ingibitorlanish substrat bilan o`xshashlikka ega bo`lmagan va ko`pincha ferment molekulasining faol markazi bilan emas, balki boshqa qismi bilan bog`lanadigan moddalr tomonidan yuzaga chiqariladi. Faolikning bo`g`ib qo`yish darajasi ko` xollarda ingibitorning fermentga ta`sir etish davomiyligi bilan belgilanadi. Bu xil ingibirlanishdabarqaror kovalent bog`lanish yuzaga chiqqanligi tufayli ferment to`liq inaktivasiyaga duch keladi va bu xolda faolsizlanish qaytmas tavsiyasiga ega bo`lib qoladi.

Qaytmas nafaollanish (inaktivasiyalanish) ga yodasetat DFF, shuningdek dietil-paranitrofenilfosfat va sinil kislotalar ta`siridagi nafaollanishni keltirib o`tish mumkin. Bunda ferment molekulasidagi funksional gurux yoki metal ionlarini bog`lanishi va ajralib chi`ib ketishi yuz beradi.

Ingibirlanish xilini aniqlash uchun Mixaelis-Menten, Laykuiver-Berk yoki boshqa Edi-Xofsti tenglamalaridan foydalaniladi:

$$V = - K_m (V / [S]) + V_{max}$$

va to`g`ri chiziqli kaordinatlardagi tegishli grafiklardan foydalaniladi (rasm 13).

Rasm 13. Raqobatli ingibitor ishtirokida bo`lib o`tadigan fermentativ reaksiya tezligining substrat

konsentrasiyasiga bog`lik grafiklari.

A. [S] dan Vkoordinati;

B. 1 / [S] dan 1 / V koordinati;

V va V –reaksiyaning maksimal tezligi;

K_m va K_{mt} o`zaro mos xolda ingibitor bo`lmagan (1) va ingibitor ishtiroki (2) da Mixaelis konstantasi.

Rasm 13 dan ko`rinib turibdiki, raqobatli ingibirlanishda ingibitor K_m kattaligini (abssiss o`qini kesib o`tadigan farq ko`rsatkichiga teng) qiymatga oshirib, maksimal tezlikka ta`sir ko`rsatmaydi. Bu narsa substrat [S] konsentriyasi etarli darajada yuqori bo`lsa, uning molekullari ingibitorni EJ kompleksidan chiqara olishini bildiradi.

Bu xil ingibirlanish nafaol, qiyin dissosiyalanuvchi EJ va (yoki) EJS komplekslari hosil bo`lgan taqdirda yuz beradi. Ko`pincha aralash ingibirlanish (ba`zan qisman raqobatsiz turi deb nomlanib) yuz beradi. Bunda bir yo`la pasayishi va K_m ning oshishi birgalikda yuz beradi. Bu EJ kompleksi qisman faolligini saqlaydi, ya`ni oraliq uch komponentli EJS kompleks hosil qilish qobiliyati saqlanadi, hamda bu kompleksdan sekinlashgan tarzda bo`lsada katalitik jarayonning davom etishi kuzatiladi.

Juda kamdan kam xolatlarda substrat konsentriyasi oshirilganda ferment faolligini bo`g`ib qo`yishi kuchayadi, bu xolatni cheksiz raqobatsiz ingibirlanish atama bilan atash taklif qilingan.

Materiallarni mustahkamlash uchun savollar.

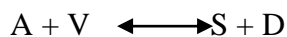
1. Anorganik va organik katalizatorlar uchun xos bo`lgan umumiy xususiyatlar.
2. Fermentativ reaksiyalarning tezligi qanday sharoitlarga bog`liq.
3. Fermentativ reaksiyalarga aktivator va ingibitorlarni ta`siri.
4. Koferment, kofaktorlar.
5. Fermentativ reaksiyalarga muhit rN ni ta`siri.
6. Fermentativ reaksiyalarga haroratning ta`siri.
7. Fermentlarning termolabilligi.
8. Fermentlarning maxsusligi.
9. Fermentlar faollikka ta`sir etuvchi omillar.
10. Fermentativ reaksiyalar tezligiga substrat va ferment konsentriyalar ta`siri.
11. Fermentlarning faollashuvi va ingibirlanishi.
12. Qaytar va qaytmas ingibirlanish.
13. Raqobatli va raqobatsiz ingibirlanish.

FERMENTLAR FAOLLIGINI BOSHQARILISHI.

Tirik organizmlarning eng noyob xususiyatlaridan biri katabolitik (biodekradaktiv) va anabolitik (biosintetik) jarayonlarning hayratda qolarlik darajada muvozanatda bo`lishi hisoblanadi. Hujayrada sintez, parchalanish hamda yuzlab va minglab xilma-xil moddalarning o`zaro almashinuvi jarayonlari sodir bo`ladi, bu jarayonlar ko`plab boshqariluvchi mexanizmlar orqali boshqarilib, organizmning ichki muhitni doimiyeligini ta`minlaydi. quyida fermentlar faolligini boshqarilishiga oid ba`zi mexanizmlar to`g`risida mulohaza yuritiladi.

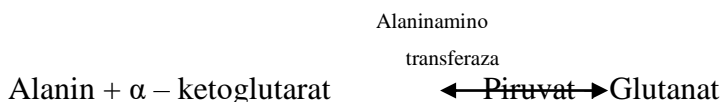
MASSALAR TA`SIRI QONUNI.

Fermentlar yordamida katalizlanadigan:



xildagi qaytar reaksiya reaksiyalar komponenti konsentriyasi va uning yo`nalishi massalar ta`siri qonuniga muvofiq amalga oshadi. Jumladan shu yo`sinda bo`lib o`tadigan reaksiyani

alaninaminotrans feraza tomonidan katalizlanadigan transaminlanish reaksiyasi misolida tushuntirish mumkin:



Real sharoitda bu reaksiya chegaralangan tarzda qator tavsiyaga ega, chunki u bir yo`nalishda (o`nga) qarab yo`nalgan bo`ladi, chunki hosil bo`lgan reaksiya maxsuloti boshqa fermentlar uchun substrat vazifasini bajarishi mumkin hamda reaksiya muhitidan chiqariladi; bu xolatda haqiqiy muvozanat emas, balki barqaror (stasionar) holatga o`tish yuz beradi.

5.2. FERMENT MIQDORINI O`ZGARISHI.

Bakteriyalarda fermentlarni uglerod va energiya manbai sifatida karbonsuv, masalan glyukozadan foydalanib indusirlangan uslubda sintezlashtadqiq qilingan. Muhitga gyukozani o`rniga laktozani kiritish indusirlangan yoki adaptasiyalangan (biroz muhitdan ya`ni lagfaza bosqichidan keyin) tarzda galaktozidaza (laktoza geni dasturi asosida) ni sintezlanishiga olib keladi.

Bu ferment laktozani glyukoza va laktozagacha parchalaydi. Hayvon to`qimalarida bu xilda fermentlarni tezdan sintezlanishi kamroq uchraydi, hamda induksirlangan sintez tirozintransaminaza, serin – va treonindegidraiza, triptofanprirolazalarda o`rganilgan.

Lekin organizmga ba`zi zaharlar, konserogen moddalr, alkaloidlar, insektisidlar kirib kelganda bir necha kundan keyin jigar hujayralarini endoplazmatik retikulumi gidrolazalarni (miqdoriy jihatdan mos holda) sintezi kuzatiladi. Bu fermentlar organizm uchun yot bo`lgan moddalarni oksidlantirib zaharsiz xolatga keltiradi. SHunday xolatlar ham aniqlanganki, shunga o`xshash gidroksilazalar ta`sirida bu xildagi yot moddlar organizm uchun zaharli moddalarga ham aylanar ekan.

Bu detoksikasiyaga qarama-qarshi bo`lgan xodisa letal sintez deb hham nomlangan.

5.2. PROFERMENT (ZIMOGENLAR).

Ba`zi fermentlar dastavval nofaol holda sintezlanadi va faqat hujayradan sekretlangandan so`ng faol shaklga o`tadi. Fermentning nofaol xoldagi dastlabki shaklini zimogen (yoki proferment) deb yuritiladi. Ovqat hazm qilishda ishtirok etadigan Tripsin va tripsinogenlar (va ba`zi boshqa) fermentlar ovqat tarkibidagi oqsillarni aminokislotagacha parchalaydi, aminokislotalar keyin qon oqimiga sorbsilanadi (so`riladi) nofaol dastlabki, tripsinogen va ximotripsinogen shakli oshqozon osti bezida sintezlanadi. Agar oshqozon osti bezi fermentlarni faol xolda sintezlanganda edi, bu xolatda uning xujayralari o`z-o`zidan emirilib ketgan bo`lardi, chunki hamma oqsillar ularning ta`sirida parchalanib ketar edi. Pankriatit kasali aynan tripsin va tripsinogeni oshqozon osti bezidan oldinroq ajralib chiqishi bilan bog`liq.

Zimogenning faollanishi polipeptidning birlamchi tuzilmasini bir yo`la uchlamchi tuzilmasi bilan birgalikda o`zgarishiga bog`liq. Masalan, ingichka ichakda tripsinoge polipeptidning N-uchidan geksapeptid ajralishi tufayli tripsinga aylangan. Bu jarayon birinchi bosqichda ichak shilik pardasi tomonidan kam miqdorda sintezlanadigan enteropeptidaza (ba`zan enterokinaza ham deb yuritiladi) va tripsinning o`zi tomonidan faollanadi.

SHuningdek tripsin ximotripsining barqaror faolligini ta`minlovchi ikki bosqichdan birini katalizlaydi. Tripsin ta`sirida ximotripsinning 15-a`zoli fragmenti N-uchidagi ajraladi va uni P-ximotripsinga aylantiradi. P-shakldagi molekulalardan biri, xuddi shunday molekulaga ta`sir etib, jami to`rtta peptid bog`ni uzadi va ikkita fragmentni ajratadi. Bunda faol ximotripsinni barqaror α -shakli hosil bo`ladi va u endi uchta polipeptid zanjiridan tashkil topadi.

Zimogenlar nofaol bo`ladi, chunki ularda faol markaz bo`lmaydi. Zimogenlarning

faollanishi qonning ivishida muhim ahamiyatga ega bo`ladi, uning so`ngi bosqichi qonning eruvchi oqsili fibrinogenning febringa aylanishidan iborat.

Tirik organizmlarning o`zida o`tdigan jarayonlarni tashqi va ichki omillarning ta`siriga bog`liq xolda boshqarish qobiliyatini bioboshqarish qobiliyati deb yuritiladi. Bunday qobiliyat oqsillar, ayniqsa fermentlarning faol shakllarini o`zaro almashinuvini nazorat qilinishi tufayli ro`yobga chiqadi.

Faollik: 1) kovalent modifikasiya; 2) assosiasiya – dissosiasiya jarayonlari; 3) raqobatli va raqobatsiz ingibirlanish; 4) ikkilamchi boshqaruv markazlari ta`siri yo`li bilan; 5) genlar repressiyasi orqali boshqariladi.

YUqorida e`tirof etilgan protenzalar va boshqa fermentlarning nofaol xlda sintezlanishi ma`lum ma`lum biologik mazmunga ega, bu xolatdagi proferment xolatda bo`lish, ular sintezlanadigan organlar hujayralarini parchalanib ketishdan saqlaydi.

5.4. FERMENTLARNING KIMYOVIY MODIFIKASIYASI.

Ba`zi oqsillarning uchlamchi tuzilmalari shakllanayotgan paytda sintezlanishdan keying yuz beradigan modifikasiyalanish xususiyatiga ega.

Energetik almashinuvning eng muhim fermentlari-fosforilaza, glikogensintetaza va boshqalar maxsus fermentlar - proteinkinaza va proteinfosfatazalar tomonidan amalga oshiriladigan fosforlanish va desfosforlanish orqali boshqarilishi ma`lum bo`ldi.

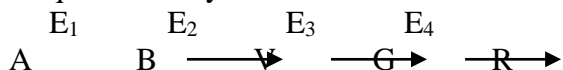
O`z navbatida proteinkinaza va proteinfosfatazalarning faolligi gormonlar tomonidan boshqariladi. Karbonsuvlarning almashinuvida ishtirok etuvchi asosiy fermentlarning faollik ko`rsatkichi, jadalligi va yo`nalishi bu fermentlarning fosforlangan va desfosforlangan shakllarining miqdoriga qarab belgilanadi.

Fermentlarning kimyoviy sintezlanish jarayoni sodir bo`lgandan keyin amalga oshadigan modifikasiyasi o`z ichiga proteoliz, metillanish glikozillanish va boshqalarni ham oladi va shuningdek shu orqali fermentlarning faolligini mikroskopik darajada boshqarilishini mos xolda moddalar almashinuvi jarayonlarini fiziologik tezligini ta`minlaydi.

5.5. FERMENTLAR FIOLLIGINI TESKARI TA`SIR TAMOILI ASOSIDA BOSHQARILUVI.

Ko`p bosqichli fermentativ jarayonlarda biosintetik reaksiyalar tezligini boshqarilishi teskari ta`sir tamoilida amalga oshadi, bunda biosintetik zanjirning oxirgi bosqichda hosil bo`lgan mahsulot birinchi bosqichni katalizlovchi ferment faolligini bo`g`ib qo`yadi.

Agar hujayralarda har bir bosqichni alohida ferment tomonidan katalizlanadigan quyidagi ko`p bosqichli reaksiya bo`lib o`tadi deb tasavvur qilinsa:



Bu xildagi ketma-ketlikda yuz beradigan reaksiyaning tezligi ma`lum darajada oxirgi mahsulot (R) ning konsentrasiyasi bilan belgilanadi. Bunda reaksiya mahsulotining ma`lum chegaradagi ko`rsatkich darajasida to`planishi reaksiyaning birinchi bosqichidagi ferment (E₁) ga ingibirlovchi ta`sir ko`rsatadi.

Muayyan mexanizm orqali ferment faolligini boshqarilishini mavjudligi dastlab E.soliga izoleysin va STF ni sintezini o`rganish jarayonida aniqlangan edi. Bunda izoleysin besh xil fermentativ reaksiyalarning oxirgi mahsuloti bo`lib, u treonning izoleysinga aylanish reaksiyasini birinchi bosqichini katalizlovchi treonindehidrataza fermentini faolsizlantirar ekan. Xuddi shunday tarzda STF biosintetik yo`lning so`ngi mahsuloti sifatida reaksiyaning birinchi bosqichidagi ferment (aspartatkarbomoiltransferaza) ga ingibirlovchi ta`sir ko`rsatib o`zining sintezini boshqaradi.

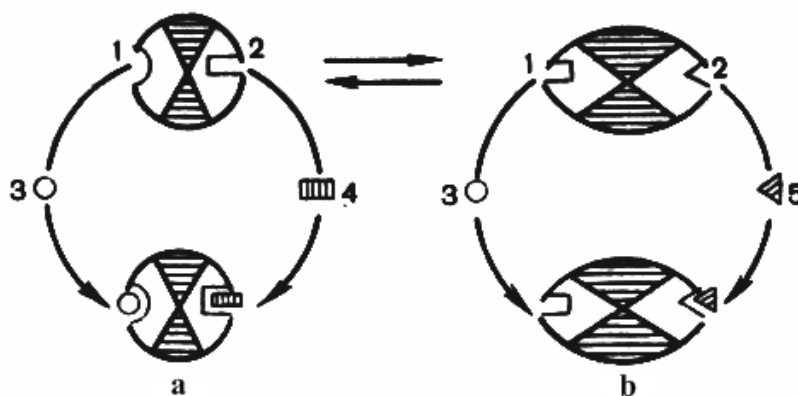
Bu ingibirlanish xili teskari bog`lanish tamoilida amalga oshgani tufayli retroingibirlanish deb yuritiladi. Bu xil ingibirlanishning mavjudligi hamma tirik organizmlar uchun isbotlangan,

hamda fermentlar faolligini boshqarilishi va umuman hujayraviy metabolizmda muhim boʻlgan boshqarilish sifatida tan olinadi.

Katabolitik (biodekradaktiv) jarayonlarda reaksiya tezligi (ferment faolligi ham) hujayraning energetik holatini indikatorlari hisoblangan. (purin asosli nukleotidlar, pirofosfat, anorganik fosfat va h.k.z) oraliq mahsulotlar miqdori bilan boshqariladi.

Boshqa tomondan amfibolitik, yaʼni bir yoʻla biosintetik va biodegradaktiv funksiyalar bajariladigan jarayonlarda ham retroingibirlanishning mavjudligi aniqlangan boʻlib, bunda makroergik birikmalar ishtirokida hujayraning energetik holatini oʻzgarishi orqali boshqarilishi aniqlangan. Amfibolitik jarayonlarga moddalar almashinuvini glikoliz, glikogenoliz, uch karbon kislotalar sikli, geksozamonofosfat yoʻl bilan parchalanish, aminokislotalarning transaminlanishi kabi eng asosiy yoʻllarini kiritish mumkin.

Amfibolitik jarayonlarda faqat ularga xos boʻlgan boshqarilishning noyob xillari uchraydi. Bunda dastlab hosil boʻlgan metabolit (reaksiya maxsuloti) koʻp bosqichli yoʻlda oxirgi bosqichda ishtirok etadigan fermentni faollashtiradi. Masalan, glyukoza-6 -fosfatning glikogen sintezida glikogensintetazaga faollashtiruvchi taʼsir etishi isbotlangan. Oxirgi maxsulot va dastlabki maqsulot orqali ingibirlanish xili allesterik (boshqariluvchi) fermentlarga xos xossa hisoblanadi. Bunda effektor oʻzini tuzilishi jihatidan substratdan farq qiladigan tuzilishga ega boʻladi. Bunda effektor ferment molekulasining makon jiqatidan faol markazidan uzoqroqda boʻlgan maxsus (allosterik) markazi bilan bogʻlanadi (rasm 15).



Rasm 15. Allosterik fermentning substrat va effektorlar bilan oʻzaro taʼsirlanish sxemasi.

a-faol kompleks; b-nofaol kompleks;

1-faol markaz; 2-allosterik markaz; 3-substrat; 4-musbat effektor; 5- manfiy effektor.

Allosterik fermentning faol va nofaol xolatlariga oʻtishidagi almashinuvini soddalashtirilgan shakli hamda substrat va effektorlarning birikishi tufayli yuzaga chiqadigan konformasion oʻzgarishlar Rasm 15 da koʻrinib turibdi.

Allosterik markazga manfiy effektorni birikishi ferment molekulasining faol markazi konfiguratsiyasini talay oʻzgarishlarini keltirib chiqaradi, natijada ferment oʻzining substratga boʻlgan muqobilligini oʻzgartiradi (nofaol kompleksning hosil boʻlishi yuz beradi).

5.6. FERMENTLAR FAOLLIGINI BOSHQARILUVINI BOSHQA XILLARI.

Metabolitik jarayonlar tezligi va ichki fermentlar faolligini nazorat qiladigan qator mexanizmlar mavjud. Hujayrada uchrovchi fermentlarning hammasi, ularning sintezlanishi va parchalanishi jadalligini oʻzgarishi orqali boshqariladi.

Boshqaruvchi mexanizmlar jumlasiga umumiy substrat uchun fermentlarning raqobati, izofermentlarning birontasini (koʻp xil ferment shakllari boʻlgan holatlarda) faolsizlanishi, kofaktor konsentratsiyasini taʼsiri va kompartmentalizasiya (fermentlarning hujayraviy va subhujayraviy jihatdan cheklanganligi) kabilar kiradi. Kompartmentalizasiya mexanizmining biologik ahamiyati juda katta boʻlsa ajab emas, chunki fermentlar oʻzlarining substratlaridan

biomembranalar orqali ajratilgan holda bo'lishi (masalan, o'zlari ta'sir etadigan sitoplazmatik moddalardan lizosomal fermentlar: proteinazalar, fosfatazalar, ribonukleazalar va boshqa gidrolitik fermentlar ajralgan holda bo'lgani muhim biologik ahamiyatga egadir.

Bundan tashqari bu mexanizm bir vaqtning o'zida o'zaro bir-biriga mos kelmaydigan metabolitik jarayonlarni ajratish imkonini yaratadi.

Bu hodisaga yaqqol misol sifatida bir vaqtning o'zida sitoplazmada kechadigan yog' kislotalarini sintezlanishi va yog' kislotalarning shu hujayraning mitoxondriyasidagi parchalanishi yuz berishini keltirib o'tish mumkin.

MATERIALLARNI MUSTAHKAMLASH UCHUN SAVOLLAR.

1. Massalar ta'siri qonuni fermentativ reaksiyalarga taalluqligi.
2. SHaroitga g'arab ferment miqdorini o'zgarishi.
3. Proferment (zimogenlar), ularning faol holatga o'tishi.
4. Bioboshqarilish qobiliyati nima?
5. Fermentlar faolligini boshqarilish tamoillari.
6. Fermentativ faollikning kimyoviy modifikasiyalanish orqali subhujayra, hujayra, to'qima, organ, yaxlit organizm miqyosida boshqarilishi.
7. Fermentlar faolligini teskari ta'sir tamoili asosida boshqarilishi.
8. Ferment faolligini boshqariluvini boshq a xillari.

6. FERMENTLARNING HUJAYRA VA TO'QIMALARDAGI LOKALIZASIYASI.

Fermentlarning hujayralar tuzilmaviy birliklari (yadro, mitoxondriya, lizosoma, mikrosoma, ribosoma, sitozol h.k.z.) da lokalizasiyasini o'rganish muhim ahamiyatga ega. Ayniqsa ferment kabi makromolekulani kimyoviy tuzilishi, fizikaviy, biologik va boshqa xossalari o'rganishda, ularni ajratib olish, tozalash, gomogen holatga keltirish uchun avvalo uni lokalizasiyasini va organ, to'qimadagi miqdoriy ko'rsatkichini bilish muhimdir.

Ferment lokalizasiyasini o'rganishning osonroq uslubi sito- va gisto- kimyoviy uslub hisoblanadi. Buning uchun organning yubqa kesmasi substrat yordami inkubasiyalanadi, so'ng reaksiya mahsulotini lokalizasiyasini tegishli maxsus bo'yoqlar bilan ishlov berib, mikroskop ostida aniqlanadi.

Preparativ enzimologiyada ko'pincha to'qimalardan tayyorlangan gomogenatlarni differensial sentrifugallanadi. Bunda hujayraning subhujayraviiy elementlarini kattaligi, hajmi, og'irligi, ya'ni sedimentasion ko'rsatkichlariga mos holda sentrifuganing aylanish tezligini asta-sekin bosqichma-bosqich oshira borish asosida cho'kmaga tushirib ajratib olinadi. Odatda fermentning taqsimlanishi ketma-ket ajratib olinadigan yakka tartibdagi subhujayraviiy fraksiyalarda, xususan, sentrifugani kamroq aylanish tezligidagi yadro fraksiyasi, o'rtaroq tezlikda ajraladigan mitoxondriya, yuqori tezlikda ajratiladigan mikrosoma va yanada yuqori tezlik tufayli ajratiladigan ribosomalar cho'kma tarzida ajratib olingandan so'ng oxirida gialoplazma fraksiyasi holadi. Eng avvalo shu narsani qayd etish joyizki, yuqoridagi ketma-ketlikda qayd etilgan fraksiyalarning hammasida lokalizasiyalanadigan fermentlar mavjud. Ularning aynan o'zi uchun maxsus hisoblangan, ya'ni aynan shu subfraksiyani tavsiflovchi fermentlarni ularning nishon (markyor) fermentlari deb yuritiladi.

Jigar hujayralari uchun nishon fermentlar quyidagi jadvalga keltirilgan (Jadval 2).

JADVAL 2.

JIGAR HUJAYRASINING SUBHUJAYRAVIY ELEMENTLARINI NISHON (INDIKATOR) FERMENTLARI.

T/r	Subhujayraviiy fraksiyalar.	Nishon (indikator) fermentlar.
	YAdro	NAD-pirofosforilaza
	Mitoxondriya	Suksinatdehidrogenaza Sitoxromoksidaza Glutamatdehidrogenaza

Lizosomalalar	Nordon fosfataza Nordon RNK-aza Nordon-DNK-aza Katepsin Arilsulfataza A va V, glukozidaza
Uratoksidaz bo`lakchalar	Uratoksidaza D-aminokislotalar oksidazasi, Katalaza.
Mikrosomalalar	Glyukoza-6-fosfataza, xolinesteraza. NADN-sitoxrom-s-reduktaza.
Gialoplazma (Sitozol)	Alanin-aminotransferaza Aldolaza. Laktatdehidrogenaza.

SHu narsani alohida ta`kidlash joyizki, muayyan fermentlar faolligini aniqlash subhujayraviy elementlar ajratib olish darajasini naqadar sifatli olib borilganligini, ya`ni ularning tozalik darajasini ?am aniqlash imkonini beradi. Ularni bu subhujayraviy elementlarning marker “nishon” fermentlari deb yuritilishini sababi ham shudir. SHu bilan birgalikda subhujayraviy elementlarning tozaligi nisbiy tavsifga ega ekanligini ham e`tirof etish lozim. Xususan, mitoxondriya fraksiyasini aynan gomogen fraksiya deb bo`lmaydi, chunki lizosoma zarrachalarini kattaligi ularga yaqin keladi, lekin boshqa tomondan ular mikrosomalarga ham yaqin zarrachalar hisoblanadi. Xuddi shuningdek mikrosomalalar ham geterogen zarrachalar bo`lib, u ham endoplazmatik turning elementlaridan tashkil topgan bo`lib ribosomalarga boy bo`ladi.

Sentrifugalarda olib borilgan fraksiyalash jarayonlarida yadro fraksiyasida fermentlarning miqdori ancha kam bo`ladi. Tajribalar asosida tasdiqlanganki, glikoliz fermentlari sitoplazmasining eruvchi qismida joylashgan bo`ladi, shu bilan birgalikda sitoromoksidaza va Krebs sikli fermentlari mitoxondriyada lokalizasiyalangan. Oksidlovchi-fosforlanish va yog` kislotalarini parchalanishini katalizlovchi fermentlar ham mitoxondriyalar tarkibida uchraydi.

YOg` kislotalarini biosintezini katalizlovchi fermentlar, aksincha sitoplazmaning eruvchi qismida bo`ladi.

MATERIALLARNI MUSTAHKAMLASH UCHUN SAVOLLAR.

1. Fermentlarning hujayralar tuzilmaviy birikmalari (subhujayraviy elementlar-yadro, mitoxondriya, lizosoma, mikrosoma, ribosoma, sitozol va h.k.z.) dagi lokalizasiyasi.
2. YAdroga, subhujayraviy elementlariga xos fermentlar.
3. Mitoxondriyalarda lokalizasiyalanadigan fermentlar.
4. Lizosomal fermentlar.
5. Uratoksilaz fermentlar.
6. Mikrosomal fermentlar.
7. Hujayraning gialoplazmasida lokalizasiyalanadigan fermentlar.

7. FERMENTLARNING NOMLANISHI VA TASNIFLANISHI VA ULARNING QISQACHA TAVSIFI.

7.1. FERMENTLARNING TASNIFLANISHI.

Fermentlarning ratsional nomi enzim ta`sir etadigan modda (substrat)yoki reaksiya nomining oxiriga «-aza» qo`yish bilan tuziladi. Binobarin, «-aza» bilan tugaydigan so`zlar albatta fermentga taalluqli dir. Masalan oqsil (protein) ni parchalovchi ferment proteinaza, gidrolizni katalizlovchi ferment gidrolaza oksidlovchi fermentlar oksidaza deb ataladi. SHuningdek kraxmal (amylum) yog` (Lipoz), glyukozid, peroksid, siydikchil (urea) larga ta`sir etadigan enzimlar o`zaro mos holda amilaza, lipaza, glikozidaza, peroksidaza, ureaza deb ataladi.

Ayrim fermentlarning ilmiy adabiyotda trivial nomlari ham saqlangan. Masalan, pepsin, tripsin, papain va h.k.z.

Fermentlarni zamonaviy tasniflash va nomlash tamoillari xalqaro biokimyoglar ittifoqining

fermentlar bo'yicha komissiyasi tomonidan ishlab chiqilgan bo'lib, Moskva shaharida 1961 yilda bo'lib o'tgan V xalqaro biokimyogarlarning kongressida tasdiqlangan. Yildan-yilga yangidan-yangi fermentlarning ochilishi, tadqiqotchilar ularga o'z xohishiga muvofiq nom qo'ya boshlashi va natijada bu sohada tartibsizliklarning paydo bo'lishi fermentlarning nomlanishini tartibga solish zaruriyatini tuqirdi. Buni ustiga bir xil fermentning o'zini xilma-xil nomlash holatlari yuz berib, bu sohada ishlarni chalg'itib yuboraboshladi.

1961 yilgacha fermentlarni ma'lum bir qoidalarga bo'ysunadigan tamoilda tasniflash amalga oshirilmas edi. Masalani murakkabligi shunda ediki harxil tadqiqotchilar fermentlarni tasniflash borasida har xil tamoillardan foydalanishar edi.

Komissiya taklif qilgan uslubda fermentlarni nomlash, tasniflashda uch xil tamoilni asos qilib olindi.

Birinchi-tamoil-fermentning kimyoviy tabiati, ya'ni uning qaysi guruhga mansub (flavoprotein, piridoksalfosfat protein, gemprotein, metalloprotein va h.k.z.) ekanligi.

Lekin bu tamoil tasniflash uchun umumiy asos bo'lib xizmat qilaolmas edi, chunki identifikasiyalash va to'g'ridan-to'g'ri aniqlash imkoniga ega bo'lgan prostetik guruhli fermentlar juda kam miqdorni tashkil qiladi.

Ikkinchi tamoil ferment ta'sir etadigan substratning tabiati hisoblanadi. Bu tamoil bo'yicha ham tasniflash ancha qiyinchiliklarni yuzaga keltiradi, chunki bir sinfga mansub bo'lgan moddalar (Oqsillar, karbonsuvlar, lipidlar, nuklein kislotalar) va almashinuv jarayonlarida ulardan hosil bo'lgan oraliq mahsulotlar substrat vazifasini bajarishi mumkin.

SHu bois, fermentlarni tasniflashda uchinchi tamoil-katalizlovchi reaksiyaning xili e'tiborga olinadi. Bu tamoil harqanday reaksiya uchun alohida tavsifga ega va udan fermentlarni tasniflash va ilmiy nomlash uchun foydalanish mumkin.

SHunday qilib fermentlarni ilmiy asosda nomlashda kimyoviy reaksiyaning xili, substrat (yoki substratlar)ning nomi bilan birgalikda fermentlarning katalizlovchi reaksiya xili, tasnifiy nomlanish uchun asos qilib olingan.

Umuman olganda fermentlar 6 ta sinfga bo'lib o'rganiadi:

- 1.Oksireduktazalar;
- 2.Transferazalar;
- 3.Gidrolazalar;
- 4.Liazalar;
- 5.Izomerazalar;
- 6.Ligazalar. (sintetazalar).

7.2. FERMENTLARNING NOMEKLATURASI.

Fermentlarning zamonaviy tasniflash asosida nomlanganda yuqorida ketirilgan tamoillarga muvofiq ravishda ish yuritib, ularning halqaro miqyosda umumiy qabul qilingan yagona tartibga muvofiq qaysi sinfga mansubligi (dastlabki raqam, ya'ni: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7), uning kenja sinfi (ikkinchi raqam), kichik kenja sinfi (uchunchi raqam) va kichik kenja sinfga kiruvchi ferment nomeri (to'rtinchi raqam) ni ko'rsatadigan maxsus tartib asosida keltiriladigan to'rt raqamni shifr bilan belgilanadi.

FERMENTLARNING ZAMONAVIY NOMENKLATURASI

Fermentlarni shu oltita sinfga tegishli ayrim vakllarini tasniflash va nomlash tamoillariga rioya qilgan holda halaro miqyosida qabul qilingan ruyxat namunasi jadval....da keltirilgan.

JADVAL ...

FERMENTLAR TOMONIDAN KATALIZLANADIGAN REAKSIYALARNING TASNIFI VA NOMLANISHI.

TARTIB №	SISTEMATIK (TIZIMLI) NOMLANISH	TRIVIAL NOMLANISH	KATALIZLAYDI
-------------	-----------------------------------	----------------------	--------------

(SHIFR)			GAN REAKSIYASI
1. OKSIREDUKTAZALAR			
1.1 Donorlarning CN – OH guruxiga ta`sir etadi			
1.1.1 Akseptor sifatida NAD va NADF xizmat qiladi			
1.1.1.1	Alkogol: NAD - oksidoreduktaza	Alkogoldehidrogenaza	Alkogol + NAD = atdegid yoki keton + qaytarilgan NAD. N2
1.1.1.27	L – Laktat: NAD - oksidoreduktaza	Laktatdehidrogenaza	L – Laktat + NAD = Piruvat + qaytarilgan NAD. N2
1.1.1.37	L – Malat: NAD - oksidoreduktaza	Malatdehidrogenaza	L – Malat + NAD = Piruvat + qaytarilgan NAD. N2
1.1.3 Akseptor sifatida kislorod xizmat qiladi			
1.1.1.4	β -D-glyukoza: kislorod oksidoreduktaza	Glyukozoeksidaza	β -D-glyukoza + O2 = D – glyukono – δ – lakton + N2O2
1.2 Donorlarning aldehid yoki keton guruhiga ta`sir etadi			
1.2.1 Akseptor sifatida NAD va NADF xizmat qiladi			
1.2.1.12	D –gliseraldehid – 3 – fosfat: NAD – oksidoreduktaza (fosforlovchi)	Gliseraldehid-fosfatdehidrogenaza, triozofosfatdehidrogenaza	D –gliseraldehid – 3 – fosfat + fosfat + NAD = 1,3 – difosfatgliserinova ya + kisota + qaytarilgan NAD
1.2.3 Akseptor sifatida kislorod xizmat qiladi			
1.2.3.2	Ksantin: kislorod – oksidoreduktaza	Ksantinoksidaza	Ksantin + N2O + O2 = Urat + N2O2
1.3 Donorlarning SN – SN guruxiga ta`sir etadi			
1.3.1 Akseptor sifatida NAD va NADF xizmat qiladi			
1.3.1.1	4,5 – digidrourasil: NAD - oksidoreduktaza	Digidrourasil – dehidrogenaza	4,5 – digidrourasil + NAD = Urasil + qaytarilgan NAD
1.4 Donorlarning SN – NN2 guruxiga ta`sir etadi			
1.4.1 Akseptor sifatida NAD va NADF xizmat qiladi			

1.4.1.2	L – glutamat: NAD – oksidoreduktaza (fosforlovchi)	Glutamatdehidrogenaza	L – glutamat + N ₂ O + NAD = 2 – oksoglutarat + NN ₃ + ?aytarilgan NAD
1.4.3 Akseptor sifatida kislorod xizmat qiladi			
1.4.3.2	L – aminokislota: kislorod – oksidoreduktaza (fosforlovchi)	Oksidaza L - aminokislota	L - aminokislota + O ₂ + N ₂ O = 2 – oksokislota NN ₃ + N ₂ O ₂
1.5 Donorlarning S – NN guruxiga ta`sir etadi			
1.6 Qaytarilgan NAD ki NADF ga ta`sir etadi			
1.9 Donorlarning gemiga ta`sir etadi			
2. TRANSFERAZALAR			
2.1. Bir karbonli qoldiqni ko`chiradi			
2.1.2 Oksimetil, formil va shunga o`xshash qoldiqlarni ko`chiradi			
2.1.2.1	L- serin: tetrogidrofalat – 5,10 - oksimetiltransferaza	Serin – oksimetil-transferaza	L- serin: Tetrogidrofalat = Glisin + 5,10 - metilentetragidrofalat
2.1.3 Karboksil karboi qoldiqlarni ko`chiradi			
2.1.3.2	Karboilfosfat: L – aspartat – karbamoittransferaza	Aspartat – karbamoittransferaza	Karbomoilfosfat + L – aspartat = Ortofosfat + N – karbomoi – L – aspartat
2.2 Aldegid yoki keton qoldiqlarni ko`chiradi			
2.2.1.1	Sedogeptuoza – 7 – fosfat: D – glisearaldegid 3 – fosfat – glikolaldegid-transferaza	Transketolaza, gikolaldegid-transferaza	D – sedogeptuoza - 7 – fosfat + D – giseraldegid – 3 – fosfat = D – riboza – 5 – fosfat + D – ksiluloza – 5 – fosfat
2.3 Asil guruxini ko`chiradi			
2.3.1 Asilni ko`chiruvchi transferazalar			
2.3.1.8	Asil – KoA: ortofosfat – asetiltransferaza	Fosfat – asetiltransferaza	Asetil – KoA + Ortofosfat = KoA + Asetilfosfat
2.4 Geksozil guruxini ko`chiradi			
2.4.1 Gyukozilni ko`chiruvchi transferazalar			
2.4.1.8	Matoza: ortofosfat - glyukozil -transferaza	Maltozofosforilaza	Matoza + Ortofosfat = ? – D

			- glyukoza - 1 - fosfat + D - glyukoza
2.6 Azotli guruxlarni ko`chiradi			
2.6.1 Amino gurhini ko`chiruvchi transferazalar			
2.6.1.1	L - aspartat: 2 - oksoglutarat - aminotransferaza	Aspartat - aminotransferaza	L - aspartat + 2 - oksoglutarat = Oksaloasetat + L - glutamat
2.7 Tarkibida fosfor tutuvchi guruxlarni ko`chiradi			
2.7.1 Akseptor sifatida spirt gurux xizmat qiladigan fosfotransferaza			
2.7.1.2	ATF: glyukoza - 6 - fosfotransferaza	Glyukokinaza	ATF + D - glyukoza = ADF + D - glyukoza 6 - fosfat
2.7.1.40	ATF: piruvat - fosfotransferaza	Piruvatkinaza	ATF + Piruvat = ADF + Fosfoenolpiruvat
2.7.2 Akseptor sifatida karboksil xizmat qiladigan fosfotransferaza			
2.7.2.1	ATF: asetat - fosfotransferaza	Asetatkinaza	ATF + Asetat = ADF + asetilfosfat
3. GIDROLAZALAR			
3.1 Murakkab efir bog`larga ta`sir etadi			
3.1.1 Karbon kislotalar efirlarini gidrolizlash			
3.1.1.7	Asetilxolin - gidrolaza	Asetilxolinesteraza	Asetilxolin + N ₂ O = Xolin + Asetil
3.1.3 Fosfomonoefirlari gidrolazalari			
3.1.3.9	D - glyukoza - 6 - fosfat - fosfogidrolaza	Glyukoza - 6 - fosfataza	D - glyukoza - fosfat + N ₂ O = D - glyukoza + N ₂ PO ₄
3.1.4 Fosfodieflari gidrolazalari			
3.1.4.1	Fosfogidrolaza ortofosforx diefirov	Fosfodiesteraza	Fosfodiefir + N ₂ O = Fosfomonoefir + Spirt
3.4 Peptid bog`larga ta`sir etadi (peptid gidrolazalar)			
3.4.4 Peptidil - peptid gidrolazalar			
3.4.4.1		Pepsin	Peptidlarni gidrolizlaydi, ayniqsa aromatik yoki dikarbon

			aminokislotalar joylashgan bog'larni
3.4.4.4		Tripsin	L- argenin va L – lizinlarning karboksil guruxlari joylashgan amid, murakkab efir bog'li peptidlarni gidrolizlaydi
3.4.4.5		Ximotripsin	Aromatik – L – aminokislotalarining karboksil gruppalarini amid va murakkab efir bog'li peptidlarni gidrolizlaydi
3.5 Peptid bog'lardan farqlanuvchi S – N bog'larga ta'sir etadi			
3.5.1 Tarmoqlanmagan zanjirli amidlarga ta'sir etadi			
3.5.1.5	Karbamid – amidogidrolaza	Ureaza	Mochevina + N ₂ O = SO ₂ + 2NN ₃
3.6 Kislota anhidrid bog'larga ta'sir etadi			
3.6.1 Fosforil tutuvchi anhidridlarga ta'sir ko'rsatadi			
3.6.1.1	Pirofosfat – fosfogidrolaza	Neorganicheskaya pirofosfat	Pirofosfat + N ₂ O = 2 Ortofosfat
4. LIAZALAR			
4.1 Karbon – karbon liazalar (karbonli guruxlarni ko'chiradi)			
4.1.1 Karboksi - liazalar			
4.1.1.1	Karboksi – liaza 2 – oksokislota	Piruvatdekar-boksilaza	2-Oksokislota = Aldegid + SO ₂
4.1.2 Aldigid – liazalar			
4.1.2.7	Ketoza – 1 – fosfat – aldigid – liaza	Aldolaza	Ketoza – 1 – fosfat = Dioksiasetonfosfat + Aldegid
4.3 Karbon – azot liazalar (karbon tutib turgan azotni ko'chiradi)			
4.3.1 Ammiak – liazalar			

4.3.1.1	L – aspartat – ammiakliaza	Aspartat – ammiakliaza	L – aspartat = Fumarat + Ammiak
5. IZOMERAZALAR			
5.1 Rasemazalar va epimerazalar			
5.1.1 Aminokislotalar va ularning xossalariga ta`sir etadi			
5.1.1.1	Alaninrasemaza	Alaninrasemaza	L – alanin = D – alanin
5.1.2 Oksikislotalar va ularning xossalariga ta`sir etadi			
5.1.2.1	Laktatrasemaza	Laktatrasemaza	L – laktat = D – laktat
5.1.3 Karbonsuvlar va ularning xossalariga ta`sir etadi			
5.1.3.2	UDF glyukoza – 4 epimeraza	UDF glyukoza – epimeraza	UDF glyukoza = UDF galaktoza
6. LIGAZALAR (sintetazalar)			
6.1 S – O bog`lar hosil qiladi			
6.1.1 Aminoasil – RNK hosil qiluvchi ligazalar			
6.1.1.1	L - tirozin: sRNK – ligazalar (AMF)	Tirozil – sRNK – sintetaza	ATF + L – tirozin + sRNK = AMF + Pirofosfat + L – tirozil - sRNK
6.2 S – S bog`lar hosil qiladi			
6.2.1 Kislota – tioliligazalar			
6.2.1.1	Asetat: KoA – ligaza (AMF)	Asetil - KoA – sintetaza	ATF + Asetat + KoA = AMF + Pirofosfat + Asetil - KoA
6.3 S – N bog`lar hosil qiladi			
6.3.4 har xil S – N ligazalar			
6.3.4.2	UTF: ammiak – ligaza (ADF)	STF – sintetaza	ATF + UTF + NH ₃ = ADF + Ortofosfat + STF
6.4 S – S bo`larni hosil qiladi			

6.4.1.2	Asetil – KoA: dnuoks uglevoda – ligaza (ADF)	Asetil – KoA – karboksilaza	ATF + Asetil – KoA + SO ₂ + N ₂ O = ADF + Ortofosfat + Malonil – KoA
---------	--	-----------------------------	--

7.3. FERMENTLARNING SINFLARI VA ULARNING VAKILLARIGA QISQA TASNIF

Quyidagi fermentlarning har bir sinfiga va ularning o'ziga xos jihatlari haqida qisqa tasnif beriladi.

7.3.1. OKSIREDUKTAZALAR

Bu sinfga tirik organizmlarda uchraydigan oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini katalizlovchi xilma-xil fermentlar kiradi.

Bu reaksiyalar biologik oksidlanishning mazmun va mohiyatini tashkil qiladi va demak nafas olish va achish jarayonlari bilan bog'liq. Bu sinfga vodorodni va jarayonlarni ko'chirilishini ta'minlaydigan biologik oksidlanish jarayonlarini katalizlovchi fermentlar kiradi. Ularga degidrogenazalar, oksidazalar, sitoxromreduktazalar va peroksidazalar kiradi.

Bu fermentlar bir biridan tarkibida o'ziga xos bo'lgan koferment va boshqa xil nooqsil tabiatli guruhlarning uchrashi bilan farqlanadi. SHu bilan birga ular tarkibidagi vodorod yoki elektronlarni qabul qilib oluvchi donorlarning va ularni ko'chiruvchi akseptorlarga va funktsional guruxlariga qarab ham farqlanadi.

7.3.1.1 DEGIDROGENAZALAR

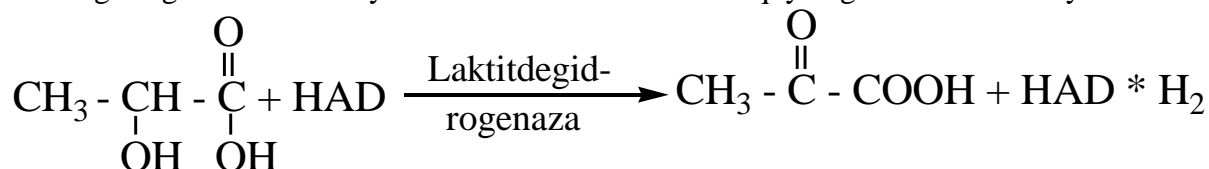
Odatda modda (substrat) molekulasidan vodorod tortib olish orqali yuz beradigan barcha reaksiyalarni degidrogenlash reaksiyasi deyiladi. Vodorodni tortib olinishi reaksiyasini katalizlovchi fermentni esa degidrogenaza deb nomlanadi.

Degidrogenazalar fermentlarning juda katta guruxini tashkil qiladi, ularning hammasi ikki komponentli hisoblanib, ba'zilarini tarkibida koferment rolini uynovchi katalitik faol gurux sifatida nikotin kislotasi (vitamin RR) qatnashadi.

Bu guruxga kiruvchi kofermentlar ikki xil dinukleotid (2.1.3.2 ga qarang) bo'lib, nikotinamidadenindinukleotid (NAD) va nikotinamidadenindinukleotitfosfat (NADF) hisoblanadi.

Degidrogenazalar hamma hayvon va o'simlik hujayralarida shuningdek, mikroorganizmlarda uchraydi. Bu fermentlar xilma xil substratlar: sut kislotasi (laktatdegidrogenaza), olma kislotasi (malatdegidrogenaza), izolimon kislota (izositratdegidrogenaza), glutamin kislotasi (glutamiddegidrogenaza), gliserinfosfat (gliserofosfatdegidrogenaza), har xil aldegidlar (aldegiddegidrogenaza) va spirtlar (alkogodegidrogenaza) ni oksidlanish (degidrogenlanish) reaksiyalarini katalizlaydi.

Degidrogenlanish reaksiyalarini sut kislotasi misolida quyidagi sxema asosida yuz beradi.



Degidrogenazalar ichida flavinli fermentlar (flavoproteinlar) ham uchraydi. Bu fermentlarning kofermentlari haqida ham yuqorida ma'lumotlar (2.1.3.3) keltirilgan bo'lib, ular flavin mononukleotid (FMN) va flavinadinindinukleotid (FAD) lar hisoblanadi. Hamma flavinli fermentlar tarkibida riboflavin (vitamin V₂) bo'lib, uning izoalloksazin guruhlari flavinlarning fizik-kimyoviy xossalarini begilaydi. Hozirgi kunda flavinli fermentlarning 30 dan ziyod xili

mavjud, ularning funksiyasi qaytarilgan NADN_2 va NADFN_2 va qahrobo kislotadan elektron va vodorodni qabul qilib olishdan iborat.

7.3.1.2. OKSIDAZA VA OKSIGENAZALAR

Odatda «oksidaza» atamasi bilan nomlanadigan degidrogenazalar vodorodni bevosita kislorodga ko`chirilishini katalizlaydi. «Oksigenaza» atamasi bilan nomlanadigan fermentlar kislorodni to`g`ridan-to`g`ri substratga ko`chirilishini katalizlaydi.

Oksidazalarga vakil qilib o`simlik va zamburug`larda uchraydigan polifenol oksidazani ko`rsatish mumkin. Bu ferment fenollar (gidroxinon, pirokatexen, pirogallol) dan elektronlar va vodorod atomlarini kislorodga ko`chirish orqali yuz beradigan reaksiyalarni katalizlaydi. Polifenollarning oksidlanishi reaksiya natijasida xinon va boshqa to`q rangli moddalar hosil bo`ladi. Olma yoki kartoshka tunganagini qoramtir rangga kirishi polifenol oksidaza fermenti ta`siri tufayli yuz beradi.

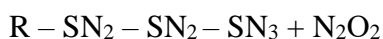
7.3.8.3. SITOXROM OKSIREDUKTAZALAR

Bu fermentlar majmuasiga birinchi sitoxromlar va sitoxromoksidaza fermenti kiradi va sitoxrom sistemasi (tizimi) deb yuritiladi. Sitoxromoksidaza fermenti kislorodni faollaydi va nafas olish zanjiri bo`ylab sitoxrom tizimi (v_1, s_1, s_2) orqali tashilib kelinayotgan elektronli sitoxromoksidaza tarkibidagi a, a_3 ga ko`chiradi va faollangan molekulyar kislorod bilan duch keltirib hujayradagi oksidlanish jarayonlarini yakunlaydi.

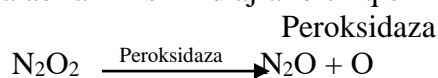
Sitoxromlarning nooqsil (prostetik) guruhlar (v, s, s_1, a, a_3) ga qon gemoglobini va katalaza fermenti tarkibidagiday temir tutuvchi guruxlar kiradi, ya`ni sitoxromlar gemproteinlar hisoblanadi.

7.3.1.4. PEROKSIDAZA VA KATALAZA

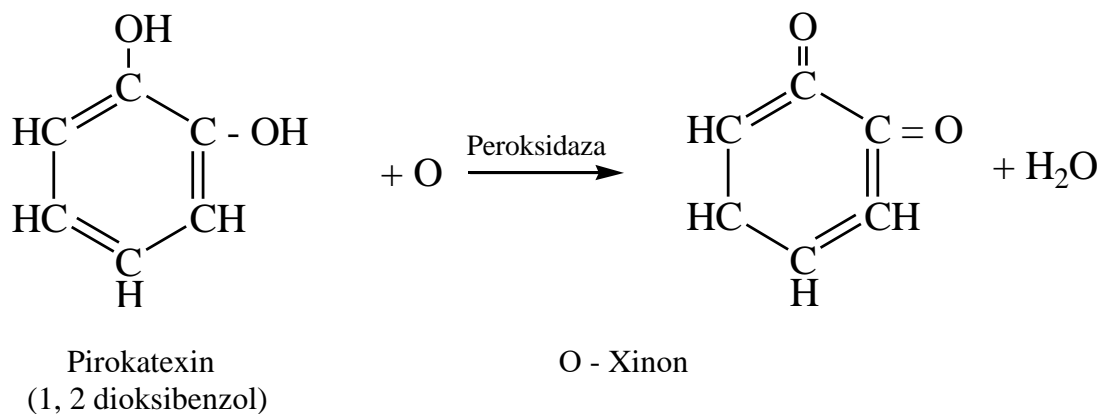
Bu fermentlar ham ikki komponentli fermentlar hisoblanib, ularning faol gruxi o`zida uch atomli temir atomini tutadi va u to`rtta pirrol halqa bilan birikkan holda oqsil bilan qo`shilib gemprotein hosil qiladi. Peroksidaza va katalazaning gem nooqsil guruxi bir xil tuzilishga ega. Bu fermentlarning katalitik funksiyasidagi farqli jihatlar ularning oqsil qismini tuzilishi bilan bog`liq. Peroksidaza organizmda har xil organik moddalarni vodorod peroksidi yordamida oksidlaydi. Bu ferment substratning vodorodini vodorod peroksidiga ko`chiradi.



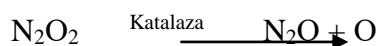
YOki vodorod peroksidini parchalab faol kislorod ajralib chiqishini ta`minlaydi:



Bunda ajralib chiqqan kislorod chiqib ketmaydi u boshqa birikmalarni oksidlanishi uchun sarflanadi:



Katalaza vodorod peroksidini suv va molekulyar kislorodgacha parchalanish reaksiyasini katalizlaydi:



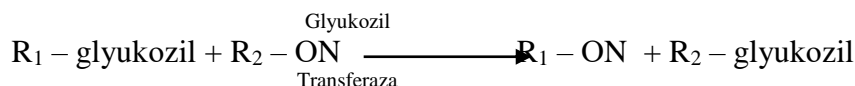
Katalaza organizmda hujayralar uchun zahira ta'sirga ega bo'lgan va naafs olish jarayonida hosil bo'ladigan vodorod peroksidini zararsizlantiradi.

Peroksidazalar va katalazalar hayvon to'qimalari, sut va qonda uchrashi aniqlangan. Bu fermentlar ayniqsa o'simliklarda ko'p uchraydi.

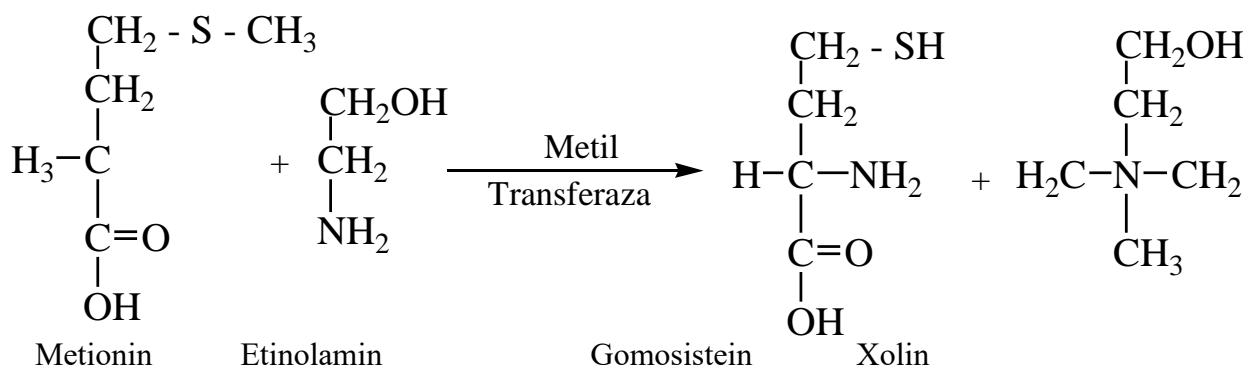
7.4. TRANSFERAZA

Bir birikmadan boshqa birikmaga funksional guruxlarni ko'chirish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlarni transferazalar deyiladi. Metil, karboksil, amino, formil guruxlarini ko'chirish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlarni o'zaro mos xolda metil-karboksil, aminofornil transferaza deb yuritiladi.

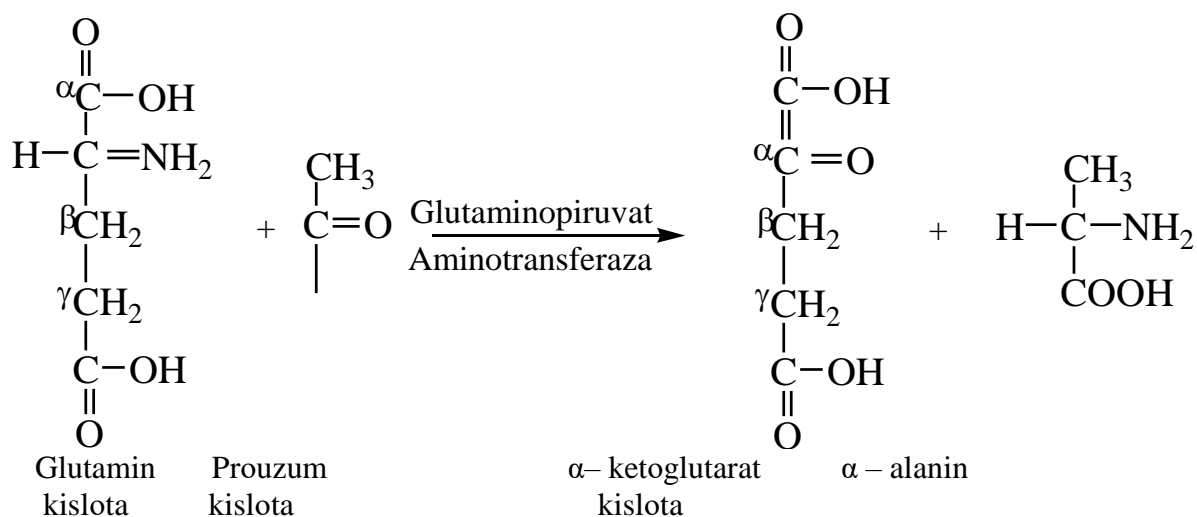
Ancha yirik molekularlar, masalan glyukozil guruxni ham ko'chirishi mumkin, uni glyukozil transferaza deb yuritiladi.



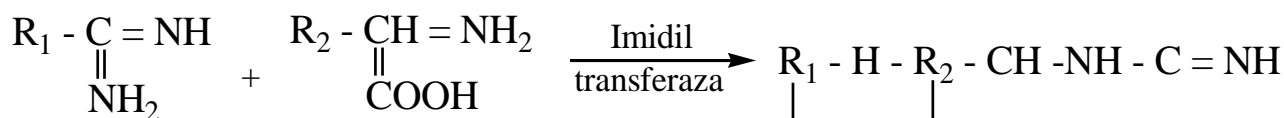
Metillanish reaksiyasiga misol qilib, metiltransferaza tomonidan katalizlanadigan metil guruhini metionindan etanol aminga ko'chirilishi va natijada xolin va gomosistening hosil bo'lish reaksiyasini keltirish mumkin:



Tirik organizmlarda aminotransferazalar ishtirokida periaminlanish reaksiyasi keng uchraydi. Masalan glutamin kislotadan pirouzum kislotaga aminoguruxni ko'chirilishi glutamino-piruvat aminotransferaza fermenti tomonidan katalizlanadi:



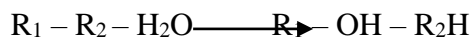
Agar imidil guruxlarni ko`chirish reaksiyasini katalizlasa bu ferment imidiltransferazaga kiradi:



7.5. GIDROLAZALAR

Gidrolazalar oqsillar, murakkab karbonsuvlar, yog`larni ancha oddiyroq birikmalargacha dastlabki parchalanishini katalizlovchi fermentlar hisoblanadi.

Bu fermentlar substratga ta`sir etib molekula o`rtasidagi bog` (S – S – bog` bundan mstasno) larni suv ishtirokida parchalanish reaksiyasini katalizlaydi:



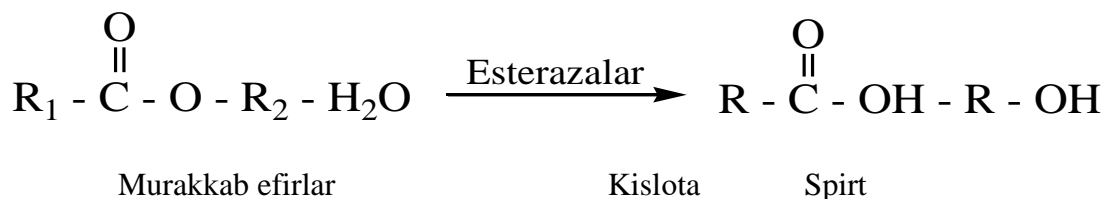
Gidrolazalarga ko`p sonli va xilma xil ferentlar guruxlari kiradi.

Ulardan muhimlari: esierazalar, peptidazalar, glyukozidazalar, amidazalar bo`lib, bu guruxlar o`z navbatida kenja guruxlarga bo`linadi.

7.5.1. ESTERAZALAR

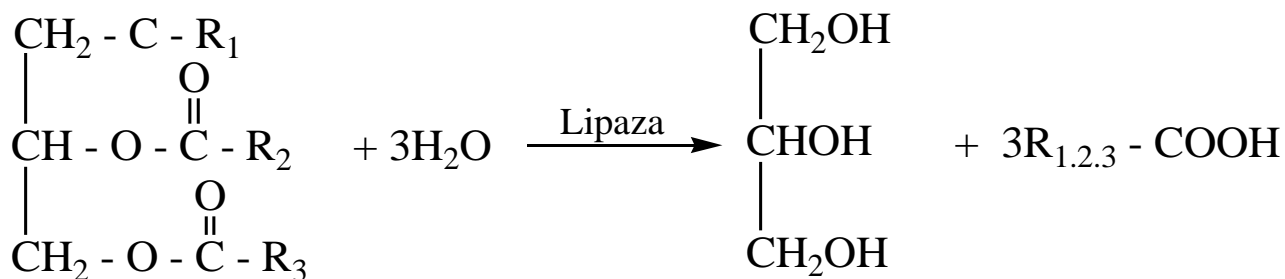
Bu guruxga bir necha fermentlar: karboksi esterazalar, fosfoesterazalar, sulfesterazalar kirib, ular efir bog`larini o`zilishi orqali xilma-xil efirlarning gidrolizi reaksiyalarini katalizlaydi:

Reaksiya sxemasi



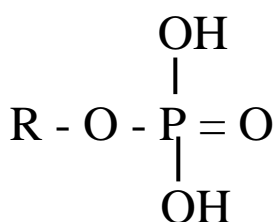
7.5.2. KARBOKSIESTERAZALAR

Bu gurux fermentlari kislotalarning spirt bilan hosil qilgan murakkab efirlarni gidrolizlanishini katalizlaydi. Ularga lipaza, oddiy esterazalar, lesitinaza A va V va boshqalar kiradi.

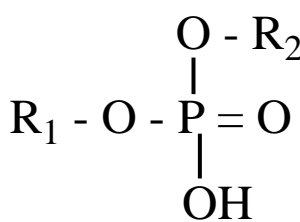


7.5.3. FOSFOESTERAZALAR

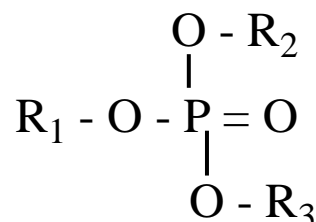
Bu fermentlar fosmono -, fosfodi – va fosfotriefirlarni parchalanish reaksiyalarini quyidagi sxema asosida reaksiyalarni quyidagi sxema asosida katalizlaydi:



Fosfomonoefir



Fosfodiefir



Fosfotriefir

Bu xildagi bog`lar DNK va RNK tarkibida uchraydi, parchalanuvchi birikmalarning nomlariga mos xolda dezoksiribonukleaza (DNK - aza) va ribonukleaza (RNK – aza) deb nomlanadi.

7.5.4. SULFOESTERAZA (SULFATAZA) LAR

Bu guruxga fenolsulfataza, xondrotin sulfataza va boshqalar kiradi. Bu fermentlar sulfat kislotaning murakkab efirlarini parchalaydi:



7.5.5. GYUKOZIDAZA (KARBOANGIDRAZA) LAR

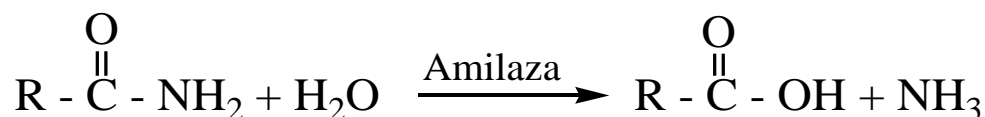
Bu gurux murakkab karbonsuvlar va glyukozidlarni gidroliz reaksiyalarini katalizlaydi:



Agar karbonsuvlarda ikkala R (R₁ va R₂) arbonsuv komponenti bo`lmasa, glyukozidlarda R₁ uglevod komponenti R₂ nouglevod komponenti bo`ladi. Polisaxarid (kraxmal, gltkogen, insulin, sellyuloza) larni parchalaydiganini pomazalar yoki polisaxaridlar guruxiga birlashtiradi.

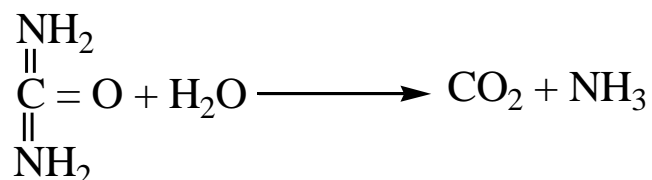
7.5.6. AMIDAZA (DEZAMIDAZA) LAR

Bu guruxga kiruvchi fermentlar amidlarni ammiak va kislotalargacha parchalanish reaksiyalarini katalizlaydi:



Bu guruxga ureaza, asparagenaza, glutaminaza, arginaza va dezaminazalar kiradi.

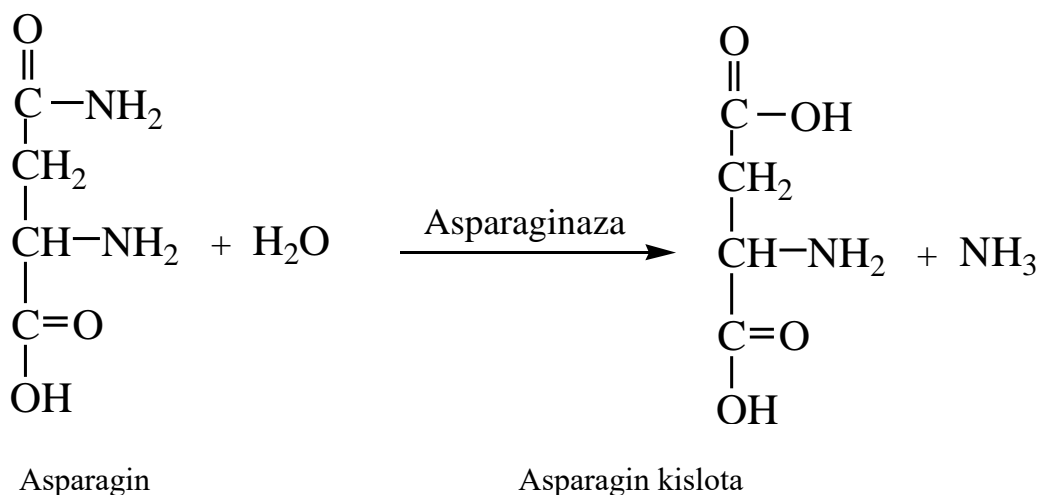
Ureaza siydikchilni gidrolizlaish reaksiyasini kataizlaydi:

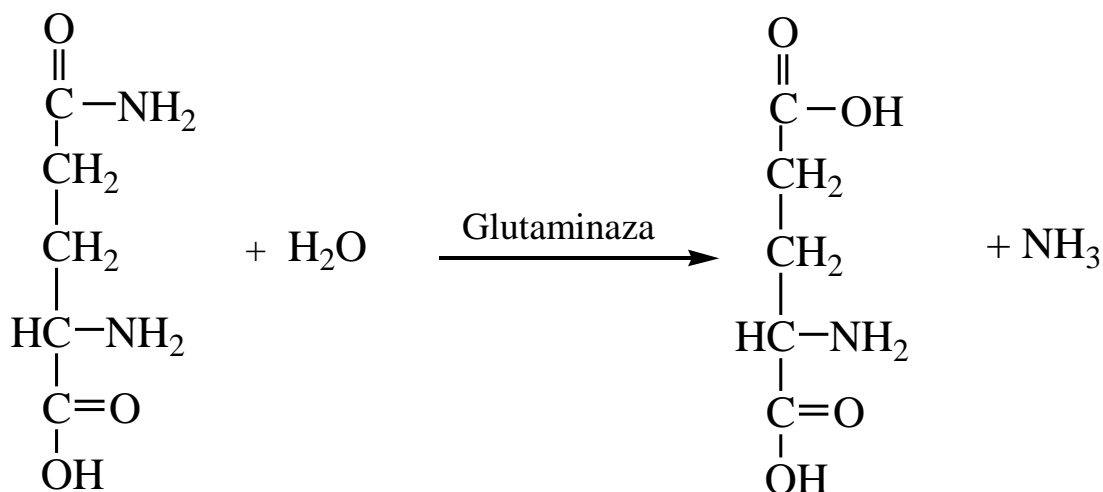


Ureaza o`simliklarda, mog`or zamburuhida va ba`zi bakterialarda uchraydi. Ayniqsa u dukkakkilar (soya, loviya, nuxat, mosh) uruhlarida ko`p bo`ladi. Go`ngning chirishida ishtirok etadigan bakteriya (urobakteriya) larda ko`p bo`ladi.

7.5.7. ASPARAGINAZA VA GLUTAMINAZALAR

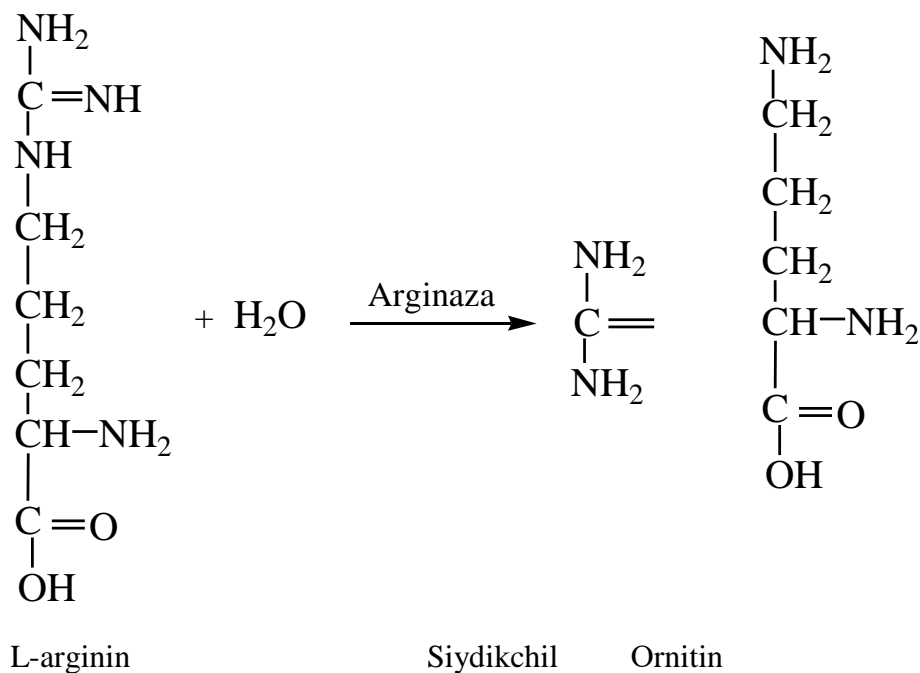
asparagen va glutaminning parchalanishini katalizlovchi fermentlar hisoblanadi. Bu ikki ferment tegishli kislotalarning amidlarini kislota va ammiakgacha parchalanish reaksiyalarini katalizlaydi:





7.5.8. ARGINAZA

Bu ferment arginin aminokislotasini suv ishtirokida gidrolizlanish reaksiyasini katalizlaydi, bunda ornitin aminokislotasi va siydikchil hosil bo`ladi:

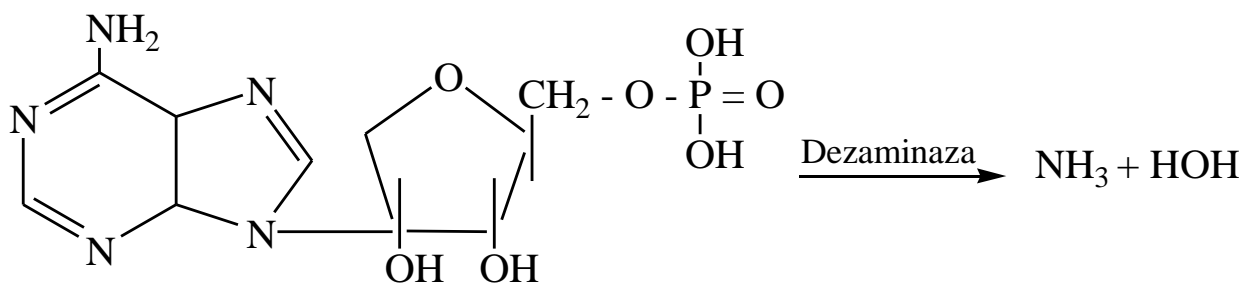


Arginaza sut emizuvchilarning jigarida siydikchil hosil bo`lishida muhim ahamiyatga ega bo`ladi. Qushlar va reptiliyalarning jigarida siydikchil hosil bo`lganligi sababli arginaza bo`lmaydi.

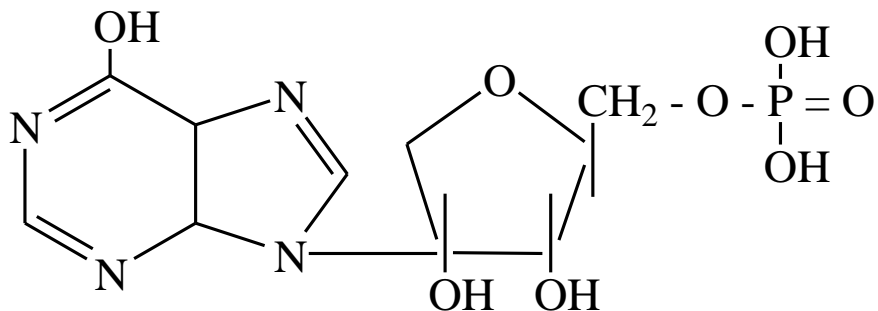
7.5.9. PURIN ASOSLARINI DEZAMINAZALARI

Dezaminazalar am gidrolazalar sinfiga kirib, purin asoslari (adenin va guanin) dan ham erkin holda ham murakkab modda tarkibida birikkan ammiakni ajralish reaksiyasini katalizlaydi.

Skelet muskullarning faoliyati jarayonida NN2 guruxining adenil kislotadan inozin kislotasi hosil bo`lishi yo`li bilan ajralishi ammiak hosil bo`lishining asosiy manbai hisoblanadi.



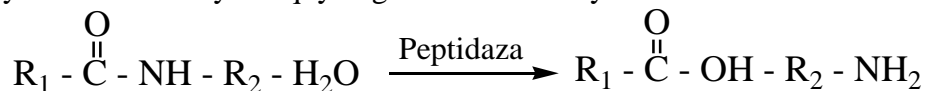
Adenil kislota



Izonozin kislota

PEPTIDAZALAR

Oqsillar va polipeptidlar molekulasidagi peptid bog`larni uzilishini katalizlovchi fermentlar peptidazalar deyiladi. Bu reaksiyalar quyidagi sxema tarzida yuz beradi:



Peptid bog`

Peptidaza o`ziga xos xususiyatga ega. Bu fermentlar peptid bog`larni o`zilishini katalizlaydi, ulardan birontasi barcha peptidlarni gidrolizlashni amalga oshiruvchi mutloq tavsifli funksiyani bajarmaydi.

Peptidazalarning ta`sir etish qobiliyati parchalashni ta`minlovchi kimyoviy guruxlar tabiatiga muvofiq ravshda amalga oshadi. Ulardan ba`zilariga erkin xoldagi kaboksil yoki amino uchlarining mavjudligi ahamiyat kasb etsa, boshqalari uchun amino yoki karboksillarning erkin xolda bo`lishi shart emas.

Peptidazalar: endopeptidazalarga va ekzopeptidazalarga bo`linadi.

Endopeptidazalar oqsil molekulasida o`rtada joylashgan peptid bog`larni uzishni katalizlaydi va oqsilni ancha kichikroq fragmentlarga aylanishini ta`minlaydi. Ularga pepsin, katensinlar, tripsin, ximotripsin, papain va boshqalar kiradi.

Ekzopeptidazalar.

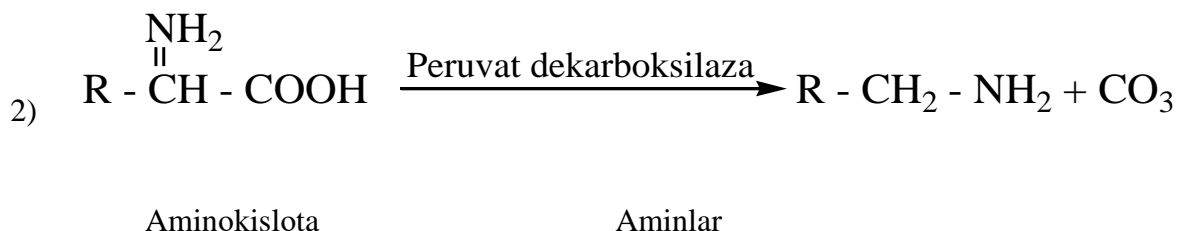
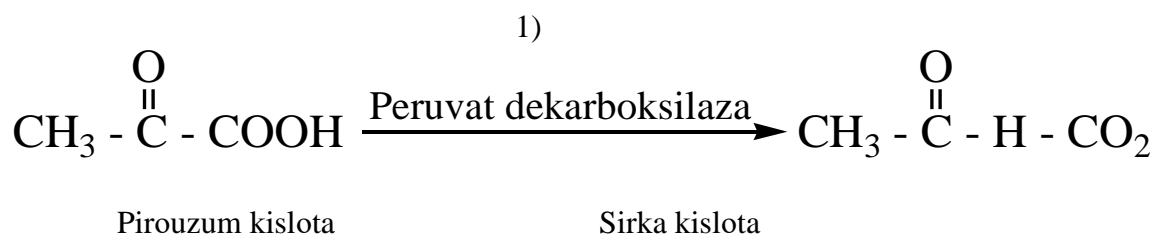
Bu gurux fermentlar oqsil molekulasi gidrolizini o`rtada joylashgan peptid bog`larni uzish orqali amalga oshira olmaydi, balki uning N uchidan yoki S uchidan bitta bittadan aminokislotani navbatma-navbat uzish orqali gidrolizlaydi. Ularga karboksipeptidaza, aminopeptidaza, depeptidaza va ba`zi katensinlar kiradi.

LIAZALAR

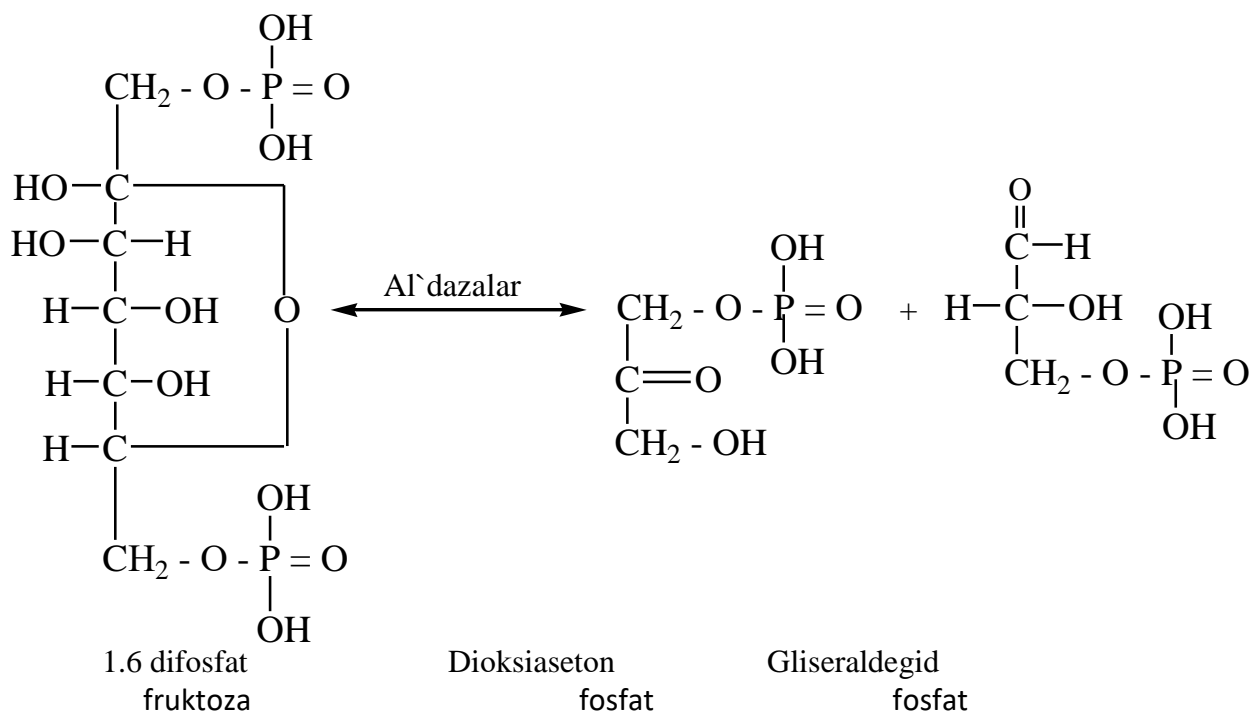
Substratdan gidroliz sodir etmasdan ma`lum guruxlarni uzib oish yo`li bilan katalizlovchi

fermentlarni liazalar atamasi orqali nomlanadi. Bu sinfga xilma-xil reaksiyalarni katalizlovchi qator fermentlar kiradi. Ulardan baʼzilar suvni ajralib chiqishini (gidratazalar), boshqalari karbonat anhidridni (dikarboksilaza) yoki ammiakni (substrat: ammiak-liaza) ajralib chiqishini katalizlasa, boshqalari fruktoza difosfatni ikki molekula triozaga ajralishini (aldolaza) katalizlaydi. Bularga misol tariqasida piruvat dekarboksilaza, aminokislotalar dekarboksilazalar, aldolaza, fosfopiruvat gidrotaza, fumarat gidrotaza, karboangidraza, aspartat-ammiak liazalarni keltirish mumkin.

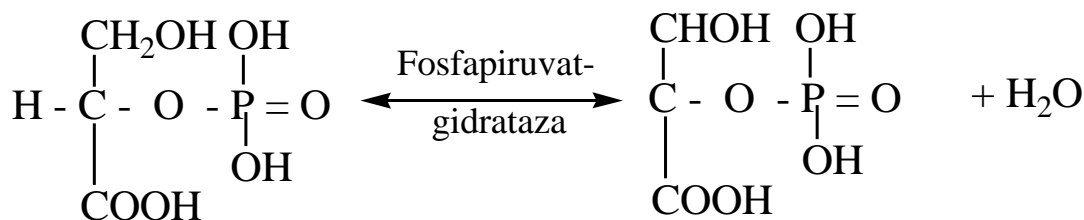
Quyida bu fermentlarni katalizlaydigan reaksiyalar sxemasi keltiriladi:



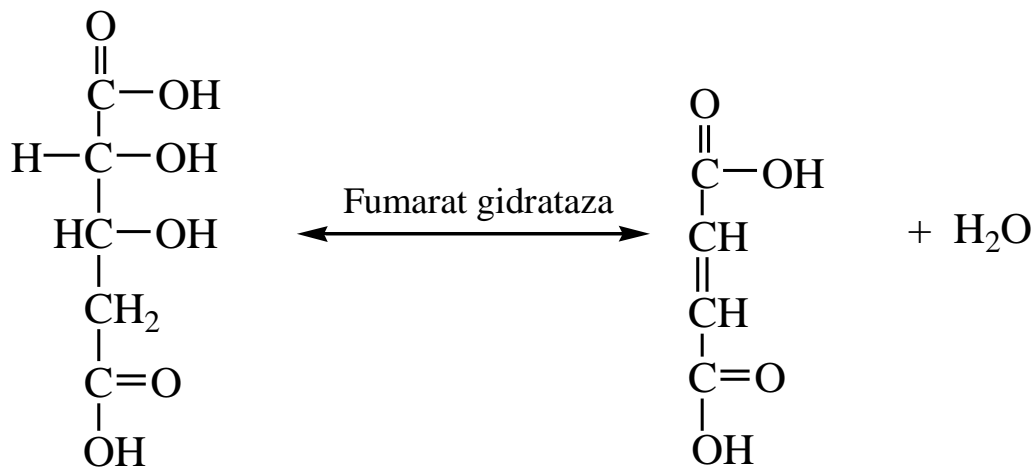
3)



4)



5)

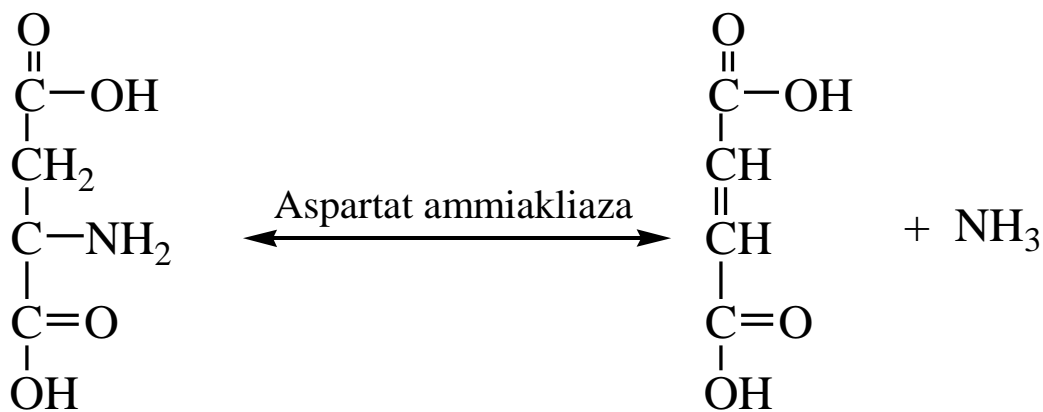


Olma kislota

Fumarat kislota



7)



Asparagin kislota

Fumar kislota

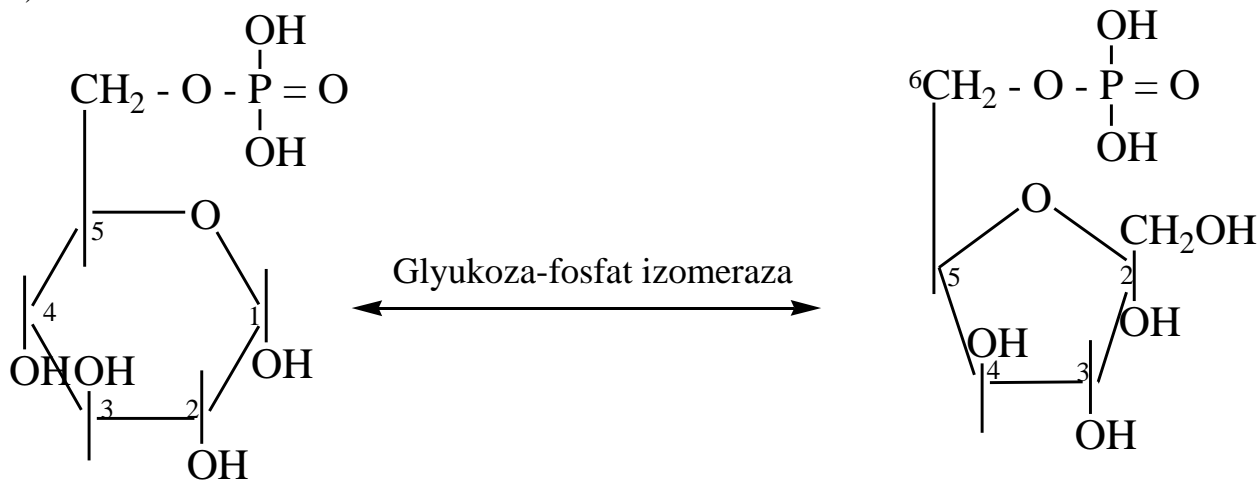
7.7. IZOMERAZALAR

Ba'zi organik moddalar molekula ichidagi almashinuvi asosida izomerizatsiya reaksiyasini katalizlovchi fermentlarga izomerazalar deyiladi. Agar reaksiya bir izomerdan boshqa izomerning hosil bo'lishi bilan barcha nomlashda izomeraza atamasi bilan nomlanaveradi, agar reaksiya natijasida molekula ichida biron funksional gurux ancha masofaga ko'chirilsa bu izomerazalarni mutaza, bir joyning o'zida ko'chirilsa (sis-trans) epimeraza atamasi bilan nomlanadi. SHu yo'sinda izomerazalar jumlasiga glyukofosfat izomeraza, triozofosfat izomeraza, ribulozofosfatiza merazalarni kiritish mumkin. Mutazalar jumlasiga esa fosfoglyukomutaza, fosfogliseromutaza,

epimerazalarni kiritish mumkin.

Izomeraza atamasi bilan nomlangan fermentlarining katalizlaydigan reaksiyalari quyida keltirilgan:

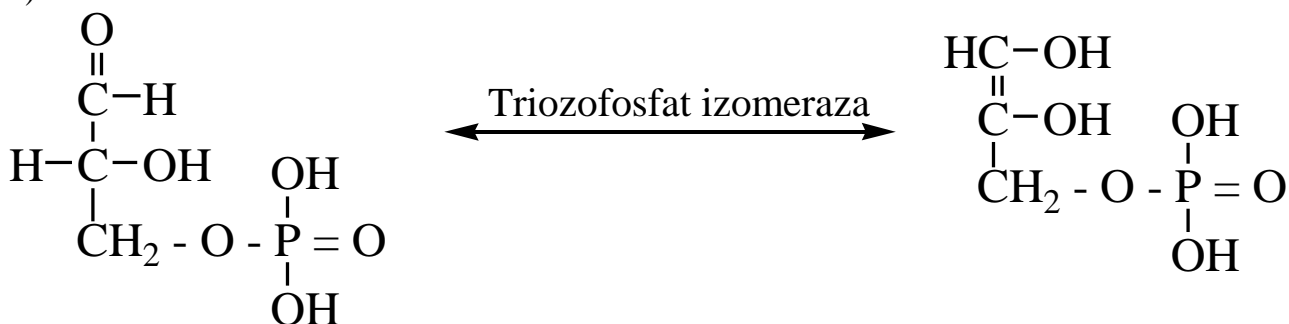
1)



Glykopyrano 30-60-fosfat

Fruktofuranozo -6- fosfat

2)



L-gliseraldehid-3-fosfat

3)

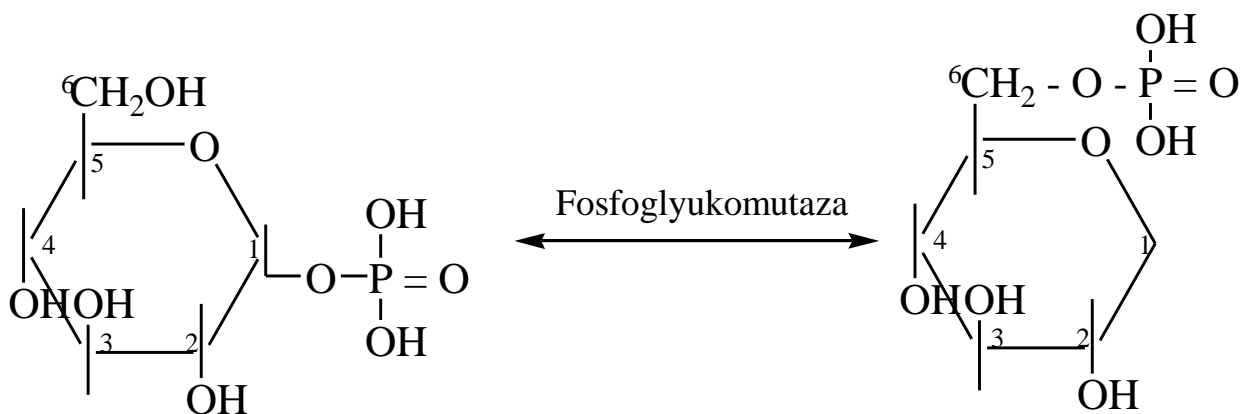


Ribuloza -6-fosfat

Ribuza -6-fosfat

Mutaza va epimeraza atamasi bilan nomlanadigan fermentlarning katalizlaydigan

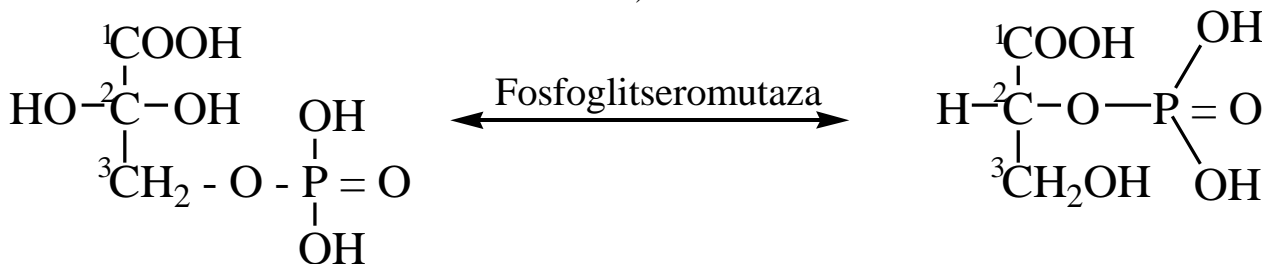
reaksiyalari quyidagilar.



Glyukopirana
za-1-fosfat

Glyukopirana
za-6-fosfat

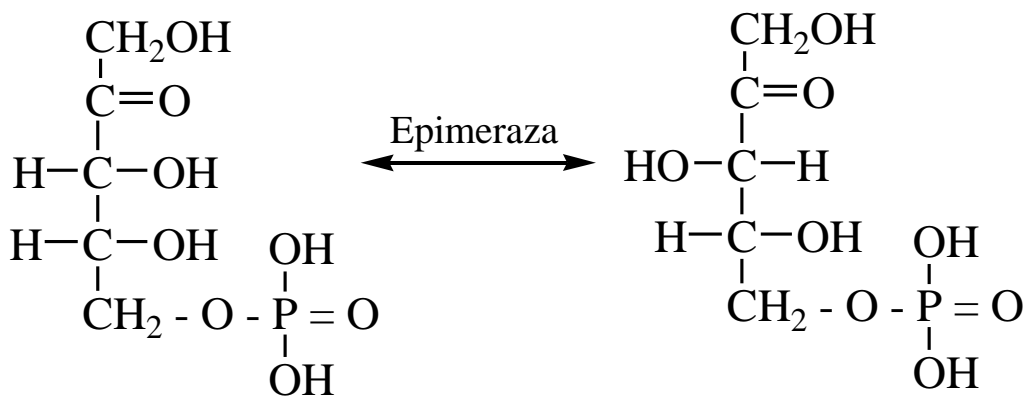
2)



3- Fosfogliserо
fosfat

2- Fosfogliserо
fosfat

3)



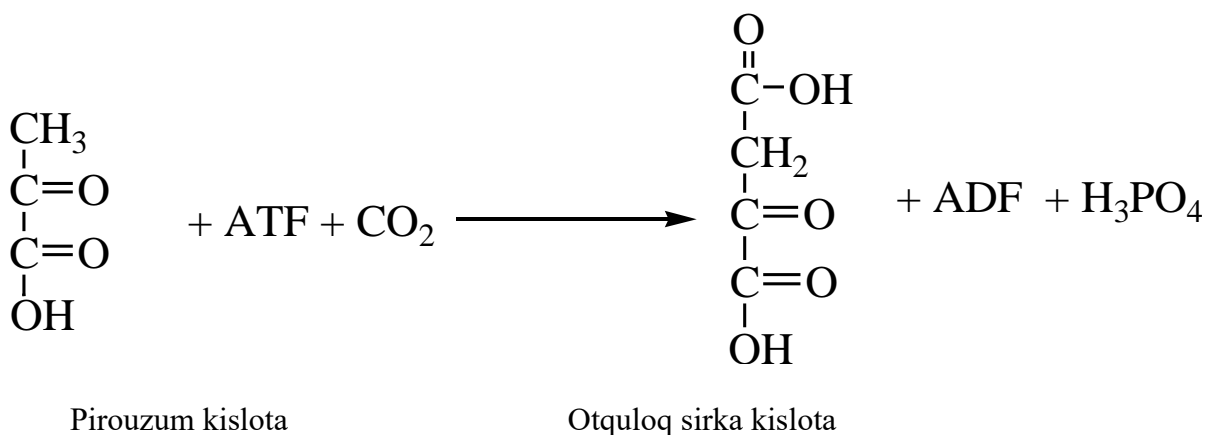
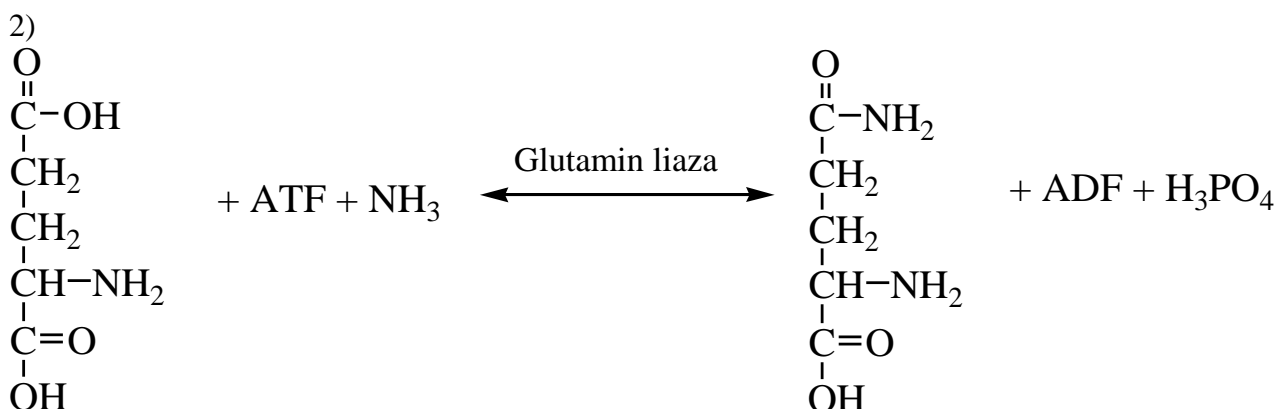
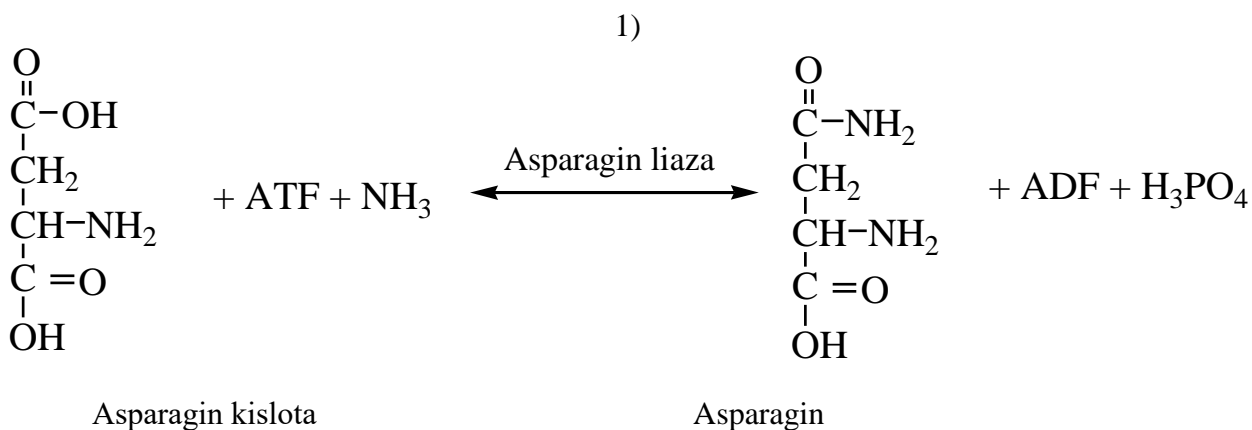
Ribuloza –5 – fosfat

Ksimuloza –5 – fosfat

7.8. LIGAZALAR (SINTETAZALAR)

Bu fermentlar oddiy molekulalardan ancha murakkab molekulalarga aylanishini adenozin trifosfat (ATF) yoki uning analoglarining parchalanish hisobiga hosil bo'ladigan energiyaning sarflanishi asosida kechadigan kimyoviy reaksiyalarni katalizlaydi. Ligazalar sinfiga fermentlarning katta guruxi kiradi. Ularga asparaginligaza, glutaminligaza, piruvatkarboksilazalarni misol tariqasida keltirib o'tish mumkin.

Ligazalar katalizlaydigan reaksiyalar quyidagi tartibda sodir bo'ladi:



AMALIYOT VA LABORATORIYA MASHG'ULOTLARINING ISHLANMALARI, ULARNI O'TKAZISH VA QO'LLASH BO'YICHA USLUBIY TAVSIYALAR

Amaliyot va laboratoriya mashg'ulotlarni tashkil etish bo'yicha kafedra professor- o'qituvchilari tomonidan ko'rsatma va tavsiyalar ishlab chiqiladi. Unda talabalar asosiy ma'ruza mavzulari bo'yicha olgan bilim va ko'nikmalarini mashg'ulotlar olib borish jarayonida yanada boyitadilar. Shuningdek, darslik va o'quv qo'llanmalar asosida talabalar bilimlarini mustahkamlashga erishish, tarqatma materiallardan foydalanish, ilmiy maqolalar va tezlarni chop etish orqali talabalar bilimni oshirish, mavzular bo'yicha ko'rgazmali qurollar tayyorlash va boshqalar tavsiya etiladi.

Kirish

Fermentlar – oqsil tabiatiga ega bo'lgan biokatalizatorlar bo'lib, ular hayotiy jarayonlarning kechishida hosil bo'ladi, moddalar almashinuvida ishtirok etish tufayli muhit va organizm o'rtasidagi dialektik birlikni ta'minlaydi. Hayvonlar, o'simliklar va mikroorganizmlarda sodir bo'ladigan hayotiy jarayonlarning kechishida fermentlarning ahamiyati beqiyosdir. Bu makromolekulalar shunday muhim hayotiy jarayonlarni ta'minlaydi-ki, ular orqali irsiy axborotning ko'chirilishi, bioenergetika, biomolekulalarning sintezi va parchalanishi kabilar amalga oshiriladi. Bu makromolekulalarni chuqur o'rganish orqali hozirgacha sir bo'lib kelayotgan va hayot deb nomlangan keng qamrovli jumboq hodisalar elementlarini mohiyatini birin-ketin ochish imkoniyati yaratildi. Fermentlar va enzimologiyaning biologiya va tibbiyotdagi ahamiyati beqiyosdir. Fermentlarni o'rganish genetik apparat ishini, membranalar faoliyatini, oziqlanish hamda makromolekulalar hususiyatlarini, hujayra ichidagi metabolizmni, kataliz, fiziologik boshqariluv, bakterial achish, energiyaning almashinuvi, biosintez jarayonlari va farmakologik ta'sir mexanizmlarini tushuntirishda muhim ahamiyatga ega bo'ladi.

Eng avvalo shuni qayd etish joizki, biologiya – bakalavr akademik darajali mutaxassis, ayniqsa shu akademik daraja negizida magistratura bo'linida tayyorlangan “*Biokimyo – 5A420109*”, “*Biotexnologiya – 5A420104*” bo'yicha mutaxassislar enzimologiyaga tegishli barcha bilimlarni to'liq o'zlashtirib olishlari, kasbga oid muammolar yechimini topishda ulardan samarali foydalanishga oid ko'nikma va malakalariga ega bo'lishlari lozim bo'ladi.

Ushbu uslubiy qo'llanma “*Biokimyo – 5A420109*” va “*Biotexnologiya – 5A420104*” mutaxassisliklari bo'yicha magistrlar tayyorlashga oid davlat ta'lim

standartlari (DTS) va unga mos ravishda ishlab chiqilgan namunaviy dastur talablariga to'liq javob beradi. Samarqand davlat universitetining fiziologiya, genetika va biokimyó kafedrasida magistr biokimyogar va biotexnolog mutaxassislar tayyorlashda orttirilgan tajribalar va kafedrada mavjud bo'lgan jihozlar, reaktivlar va boshqa imkoniyatlarni hisobga olgan holda ushbu "Enzimologiya fanidan laboratoriya va amaliy mashg'ulotlar" deb nomlangan uslubiy qo'llanma yaratildi.

Uslubiy qo'llanmada fanga tegishli bo'lgan nazariy materiallarni o'zlashtirilishini hisobga olgan holda zamonaviy enzimologiyaning amaliy jihatlariga oid ma'lumotlarni ancha ixcham, aniq bo'lib, ularni mumkin qadar tushunarli tarzda bayon qilishga harakat qilingan. Materiallarni o'zlashtirish samaradorligini oshirish maqsadida qo'llanmada biokimyoviy jarayonlarning kechishini ifodalovchi tenglamalar, formulalar, jadval, rasmlar keltirilgan bo'lib, ular tajribalarni olib borilishiga tegishli bo'lgan yo'l-yo'riqlar va matnlar bayoni bilan uyg'unlashtirilgan.

Ushbu uslubiy qo'llanma o'zbek tilida ilk bor yaratilayotganligi sababli unga tegishli bo'lgan barcha tanqidiy mulohazalar, xohish va takliflar mualliflar tomonidan mamnunlik bilan kutib olinadi.

1. FERMENTLARNI O'RGANISH USLUBLARI

Fermentlar oqsil tabiatli makromolekulyar moddalar bo'lib, tirik organizmlarda ular juda ham kam miqdorda ajraladi. Ularni ajratib olish, tozalash, tozalik darajasi, molekulyar og'irligi, tuzilishi, tarkibi va xossalarini o'rganish juda keng qamrovli uslubiy yondashuvlarni amalga oshirishni talab qiladi. Umuman olganda, enzimologiyaning amaliy jihatlarini o'rganishni ikki bo'limga ajratish mumkin.

Uning birinchi bo'limi, fermentlarni ajratib olish va tozlash uslublaridan iborat. Bu uslublar fermentlarni to'qimlardan ekstraksiyalash, tuzli va organik erituvchilar yordamida cho'ktirish, qizdirish orqali cho'ktirish, kolonkalarda o'tkaziladigan ion almashinuvi xromotogafiyasidan foydalanish asosida tozalash, kristallizatsiyalash, qayta kristallizatsiyalashdan tashkil topadi va umuman olganda fermentlar xossalarini o'rganishga tegishli barcha bajariladigan ishlar oqsillar kimyosi uslublaridan foydalanishni hisobga oladi.

Enzimologiya amaliyotini ikkinchi – "Fermentlar faolligini boshqariluvini" bo'limi subhujayraviy elementlarni ajratib olish, disk-elektroforez usulida to'qimalarning izoenzim spektrini o'rganishni hisobga oladi. Bu bo'limga tegishli amaliy darslarda subhujayraviy darajada fermentlar faolligini boshqariluvini, izoenzimlarning xossalari, fermentlarning genetik xossalariga metabolitlarning ta'sirini o'rganishga oid laboratoriya ishlari bajariladi. Toza holda ajratib olingan yoki subhujayraviy fraksiyalar tarkibidagi ferment preparatlarini tavsiflashda

poliakrilamid gelda disk-elektroforez o`tkazish, muayyan ferment faolligini aniqlash borasida optimal sharoitlarni (oqsil, substrat konsentratsiyasi va koferementlar) tanlash lozim bo`ladi. Enzimologiyaning bu bo`limining amaliyotda toza holda ajratib olingan va subhujayraviy elementlar tarkibidagi ferment preparatlarini fermentativ kinetik elementlari: reaksiyaning dastlabki va maksimal tezligi; substrat va fermentlar uchun Mixaelis konstantasi; faollikning pH optimumi; ferment ta`sirini maxsusligi; faollovchilar va ingibitorlarning ta`sirini aniqlash ishlari bajariladi.

1-LABORATORIYA ISHI:

Mavzu: Fermentlarni preparativ ajratib olish, tozalash va xossalarini o`rganish

Fermentlarni jaratib olish bilan bog`liq bo`lgan barcha ishlar sovuq xonalarda olib borilishi, ammo unda ajratib olish uchun foydalaniladigan eritmalar muzlamasligi lozim. Ko`p hollarda eritmalarini bidistillangan suvdan foydalanish asosida tayyorlanadi. Oqsillarni fraksiyalashda ishlatiladigan tuz eritmaları fermentlarning ingibitorlari bo`lgan og`ir metallar tuzlaridan xolis bo`lishi lozim. Shuning uchun bu tuzlar tarkibida EDTA bo`lgan eritmada eritilib, so`ng shu eritmalaridan qaytadan perekristallizatsiya qilinadi. Oqsilli eritmalarini fraksiyalashda yanchilgan tuz kukunini ekstraktga kam-kam miqdorda qo`shib boriladi. Fraksiyalashda qo`llaniladigan suyuq reaktivlar oqsilli aralashmalarga tomchilab qo`shiladi.

Oqsilli eritmalarini arashtirganda denaturatsiyaga olib keluvchi ko`pik hosil bo`lishini oldini olish yo`lini tanlab, aralashtirish jarayonida mexanik yoki magnit aralashtirgichli qurilma-asboblardan foydalaniladi.

Oqsillarni organik erituvchilardan foydalanish asosida fraksiyalanganda bajariladigan ishlarni harorat 0 °C dan past bo`lgan chegarada o`tkaziladi. Oqsilli eritmalaridan fermentlarni “tuzlash” yo`li bilan cho`ktirishda eng ko`p foydalaniladigan tuzlar jumlasiga ammoniy sulfat ((NH₄)₂SO₄) kiradi. Bu tuzning oqsil eritmasini to`yintirish uchun kerak bo`ladigan miqdoriy ko`rsatkichini quyidagi formula yordamida aniqlanadi:

$$B = \frac{0,515 \cdot V \cdot (S_2 - S_1)}{1 - (0,272 \cdot S_2)}$$

Bu yerda: B ml hajmda S₁ darajadagi to`yinishga ega bo`lgan eritmaning S₂ darajasigacha to`yintirish uchun kerak bo`lgan gramm hisobidagi ammoniy sulfat miqdori B harfi bilan belgilanadi. S₁ va S₂ ni konsentratsiyasi 3,8 M ga teng bo`lgan ammoniy sulfatning 0 °C da to`yinishiga mos keladigan nisbiy birlik bilan ifodalanadi. Shu maqsadda maxsus jadvaldan ham foydalaniladi (1-Jadval).

1-Jadval

Turli xil foizlarda to'yinish uchun 1 litr eritmaga (25 °C da) qo'shiladigan quruq hol dagi ammoniy sulfat tuzi miqdorlari
(g hisobida)

	%																			
	10	15	20	25	30	33	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
0	56	84	114	144	176	196	209	243	277	313	351	390	430	472	516	561	610	662	713	767
10		28	57	86	118	137	150	183	216	251	288	326	365	406	449	494	540	592	640	694
15			28	57	88	107	120	153	185	220	256	294	333	373	415	459	506	556	605	657
20				29	59	78	91	123	155	189	225	262	300	340	382	424	471	520	569	619
25					30	49	61	93	125	158	193	230	267	307	348	390	436	485	533	583
30						19	30	62	94	127	162	198	235	273	314	356	401	449	496	546
35							12	43	74	107	142	177	214	252	292	333	378	426	472	522
40								31	63	94	129	164	200	238	278	319	364	411	457	506
45									31	63	97	132	168	205	245	285	328	375	420	469
50										32	65	99	134	171	210	250	293	339	383	431
55											33	66	101	137	176	214	256	302	345	392
60												33	67	103	141	179	220	264	307	353
65													34	69	105	143	183	227	269	314
70														34	70	107	147	190	232	275
75															35	72	111	153	194	237
80																36	74	115	155	198
85																	38	77	117	157
90																		39	77	118
95																			38	77
100																				39

Quruq holdagi ammoniy sulfatning zaruriy darajadagi to'yinishini ta'minlash uchun kerak bo'ladigan miqdori 1-Jadvaldagi ko'rsatkichlardan aniqlanadi. Unda foiz hisobida to'yinish uchun 1 litr eritmaga (25 °C da) qo'shiladigan quruq holdagi ammoniy sulfat tuzi miqdori keltirilgan. Ammoniy sulfatni 25 °C da to'yinishini ta'minlaganda, uning konsentratsiyasi 4,1 M bo'ladi. Bunga erishish uchun 1 litrga 767 g tuz qo'shish kerak bo'ladi. Cho'kmani eritlgandan so'ng oqsil eritmasini ammoniy sulfat bilan to'yinish darajasi quyidagi formula bilan

$$A = \frac{\Delta n}{V} * S$$

aniqlanadi:

Bu yerda: A – cho'kmani eritlgandan keyingi ammoniy sulfat konsentratsiyasi;

V – cho'kmani eritlgandan keyingi umumiy hajmi, l hisobida;

Δn – cho'kmani eritish hisobiga oshgan hajm, l hisobida;

S – oqsilni cho'ktirish jarayonidagi to'yinish.

Nessler reaktivi yordamida ammoniy sulfat konsentratsiyasini aniqlash

Oqsil eritmasidagi ammoniy sulfatning konsentratsiyasini aniqlashning aniqlik darajasini yanada ko'tarish uchun NH_4^+ ionini Nessler reaktivi yordamida kolorimetrik yo'l bilan aniqlash lozim bo'ladi.

Kerakli reaktivlar:

1. Qayta kristallangan va qayta vakuumli eksikatorida P_2O_5 ustida quritilgan ammoniy sulfatdan tayyorlangan standart eritma.
2. 0,002 n H_2SO_4 eritmasi.
3. Nessler reaktivi.

Nessler reaktivini tayyorlash. Amaliy tadqiqotlarda Nessler reaktivini tayyorlashning ikkita uslubi mavjud.

Nessler reaktivinin tayyorlashning birinchi uslubi. Kolbaga 20 ml distillangan suv solib, unda 30 g KI eritiladi. Aralashmaga 22 g yod kristali qo'shib, to'liq erib ketgunicha aralashtiriladi. Eritmadan 1 ml ajratib olinadi va alohida probirkaga solinadi. Qolgan eritmani qalin devorli shisha idishga o'tkazib, ustiga 30 g toza simob solinadi va vodoprovod suvi oqimida sovilib, yaxshilab aralashtiriladi. Aralashmadagi sariq rang yo'qolishi bilan aralashtirish to'xtatiladi va eritma xona haroratida sovutiladi. Bundan keyin aralashmadagi yod miqdori ko'rsatkichi aniqlanadi. Bunda 1 ml 1 % li kraxmal eritmasiga bir tomchi cho'kma

usti suyuqligi tomizilganda aralashma havorangga bo`yaladi. Agar bu rang hosil bo`lmasa, asosiy eritmaga bir tomchi oldin probirkaga olib qo`yilgan eritmada tomiziladi va aralshtiriladi. Biroz kutib turiladi, yana kraxmal yordamida sinab ko`riladi. Bu ishni namuna kuchsiz ko`k-havorang hosil bo`guniga qadar takrorlanadi va keyin asosiy eritmani hajmini distillangan suv yordamida 200 ml ga yetkaziladi hamda aralashma tingunga qadar saqlanadi. So`ng cho`kma usti suyuqligi dekantatsiya qilinadi va oldindan 975 ml 10 % li NaOH solib qo`yilgan idishga o`tkaziladi. Zarurat bo`lganda aniqlash ishini o`tkazishdan oldin aralashma filtrlanadi.

Nessler reaktivini tayyorlashning ikkinchi uslubi. Kolbaga 10 g KI kukunidan solib, 15 ml distillangan suvda eritiladi va unga 15 g HgI₂ qo`shib yaxshilab aralastiriladi hamda ustiga yana 80 ml NaOH ning 50 % li (tarkibida karbonat kislota tuzlari bo`lmagan) eritmasi qo`shiladi. Aralashma yaxshilab aralastirilib, hajmi tarkibida karbonat tuzlari bo`lmagan distillangan suv qo`shish orqali 500 ml ga yetkaziladi. Aralashma bir kecha-kunduz qorong`u joyda saqlangandan keyin filtrlanadi. Tayyor Nessler erimasi tiniq bo`lishi lozim.

Ish tartibi: Namunadan 0,1 ml olib, 50 ml li o`lchov kolbasiga solinadi va H₂SO₄ ning 0,002 n eritmasi yordamida hajmi o`lchov chegarasiga yetkaziladi. Aralashma yaxshilab aralastirilgandan keyin undan 1 ml olib yana 45 ml 0,002 n H₂SO₄ solinib, 50 ml li o`lchov kolbasiga o`tkaziladi. Aralashma yaxshilab aralastirilgandan keyin 1,5 ml Nessler reaktivi qo`shiladi hamda hajmi 0,002 n H₂SO₄ yordamida o`lchov chegarasiga yetkaziladi. Aralashma yaxshilab aralastirilgach, 5 minut davomida xona haroratida qo`ldiriladi va yashil svestofiltrda kolorimetrlanadi. Bir yo`la parallel namunalarda ham aniqlash ishlari o`tkaziladi.

Ammoniy sulfatning standart eritmasini har xil miqdorlarda olib xuddi shu yo`sinda ishlov beriladi. Har xil miqdoriy ko`rsatkichlardagi standart eritmalar asosida kalibrlangan egi chiziq chiziladi. Namuna tarkibdagi oqsil konsentratsiyasi 10 % gacha va EDTA konsentratsiyasi 1 % gacha bo`lgan sharoit aniqlashga xalaqit bermaydi va olingan ma`lumotlar haqiqatga yaqin bo`ladi. Tegishli to`yinish darajasiga erishish uchun kerak bo`ladigan suyuq reagentlar (spirt, atseton, ammoniy sulfat eritmasi) ning miqdori:

$$V=V_1*(C_2-C_1)/1-C_2$$

formula asosida hisoblanadi.

Bu yerda: V – talab qilinadigan eritma hajmi, ml hisobida; V₁ – ishchi eritma hajmi; C₁ – reagentning dastlabki konsentratsiyasi; C₂ – reagentning oxirgi konsentratsiyasi.

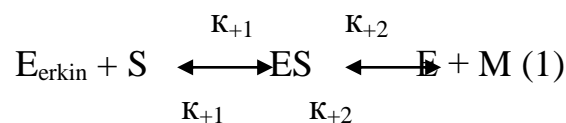
Ko`p holatlarda ajratib olinadigan ferment preparatlarini tozalsh uchun selluloza yoki sefadeks bilan to`ldirilgan kolonkalarda o`tkaziladigan xromotogafiyadan foydalanish tavsiya etiladi. Xromotogafiya uchun DEAE – selluloza, KM – selluloza yoki har xil rusumli sefadekslardan foydalaniladi. Bu

ionalmashtiruvchilardan foydalanishda ular uchun maxsus ishlab chiqilgan yo`riqnomalar me`yirlariga mos keladigan uslublar asosida ishlov beriladi.

2-LABORATORIYA ISHI:

Mavzu: Fermentativ reaksiyalar kinetikasi

Fermentativ reaksiyalarning ta`siri substrat konsentratsiyasiga bog`liq. Substrat konsentratsiyasi ancha yuqori ko`rsatkichga erishganda va uning konsentratsiyasi yanada oshirilishi reaksiya tezligiga ta`sir etmay qolganda fermentning faollik markazlari substrat bilan to`yingan hisoblanadi. Bu sharoitda reaksiya tezligi maksimal bo`ladi. Fermentning substrat bilan ta`sirlashib, ferment-substrat kompleksini hosil bo`lishini:



tenglama orqali hisoblab topiladi.

Bu yerda: E_{erkin} – erkin ferment; S – substrat; ES – ferment-substrat kompleksi; M – mahsulot.

Reaksiyaning dastlabki tezligi (V_0) ferment-substrat kompleksi konsentratsiyasiga bog`liq, ya`ni:

$$V_0 = k_3[ES] \quad (2).$$

Standart sharoitda, ya`ni $[ES]$ ning hosil bo`lishi va parchalanish tezligi bir xil bo`lganda:

$$d[ES] / dt = 0 = k_1 [E_{\text{erkin}}] [S] - (k_2+k_3) [ES]$$

$$k_1 ([E_{\text{umumiy}}][S]) - (k_2+k_3)[ES] = 0$$

$$k_1 [E_{\text{umumiy}}][S] - k_1[ES][S] - (k_2+k_3)[ES] = 0$$

$$[ES] = [E_{\text{umumiy}}][S] / [S] + (k_2+k_3) / k_1 \quad (3) \text{ kelib chiqadi.}$$

$(k_2+k_3) / k_1 = k_m$ kattalikni Mixaelis konstantasi deb yuritiladi. Dastlabki reaksiya tezligini aniqlash uchun (3) tenglamani ikkala qismi ham k_3 ga ko`paytiriladi. Agar $[ES]$ ni k_3 ga (2) ni V_0 ga almashtirsak:

$$V_0 = k_3[E_{\text{umumiy}}][S]/[S] + k_m \quad (4)$$

$$V_0 = k_3[E_{\text{umumiy}}] * 1 / (k_m/[S]) + 1 \quad (5)$$

kelib chiqadi. Tenglama (5) substratning barcha konsentratsiyalarida reaksiyaning boshlanishidagi tezligi ferment konsentratsiyasiga to`g`ri proporsional ekanligini ko`rsatadi.

Xuddi shu tenglamadan ko`rinib turibdi-ki, reaksiyaning boshlanishidagi tezligi substratning konsentratsiyasi kattaligiga ham, k_m kattaligiga ham bog`liq bo`ladi. Agar substrat konsentratsiyasi k_m ga nisbatan kam bo`lsa, unda reaksiya tezligi substratning funksiyasi hisoblanadi. Agar $[S]$ kattaligi k_m kattaligidan katta bo`lsa, unda reaksiya tezligi faqat $[E_{\text{umumiy}}]$ ga bog`liq bo`ladi. Shunday qilib, $[S] > k_m$

bo`lgan sharoitda:

$$V_0 = V_{\text{maks}} = k_3[E_{\text{umumiy}}] \quad (6)$$

bo`ladi.

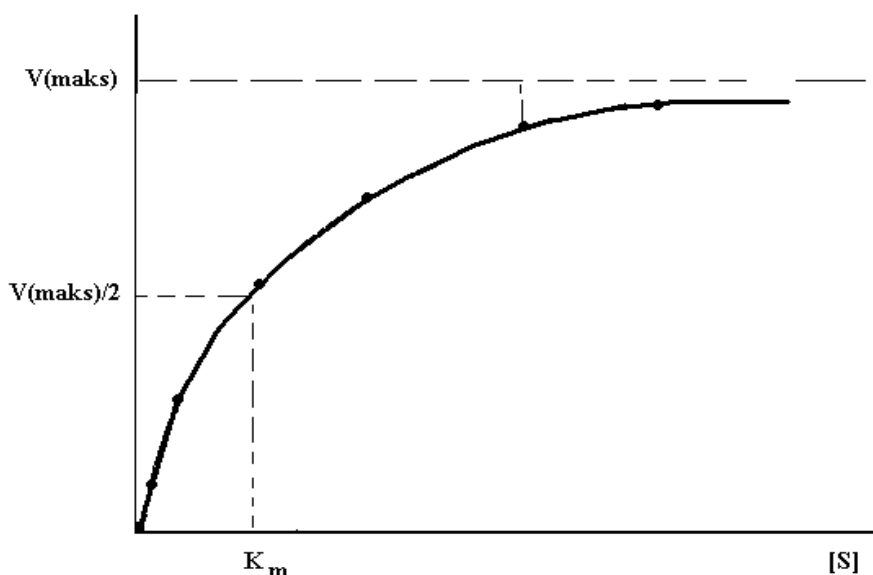
Bu tenglamani (4) tenglamaga qo'yib chiqsak, unda:

$$V = V_{\text{maks}} [S] / [S] + k_m \quad (7) \text{ yoki}$$

$$k_m = [S](V_{\text{maks}}/V_0 - 1) \quad (8)$$

kelib chiqadi.

Tenglamalar (7 va 8) Mixaelis-Menten tenglamalari sifatida ma'lum. k_m miqdoriy jihatdan substrat konsentratsiyasiga teng va mol litr hisobida ifodalanadi. Maksimal reaksiya tezligini yarmiga teng tezlikni ta'minlaydigan substrat konsentratsiyasi k_m kattalikka ekvivalent bo'ladi (1- Rasm).



1-Rasm. Fermentativ reaksiyalar tezligining substrat konsentratsiyasiga bog'liqligi

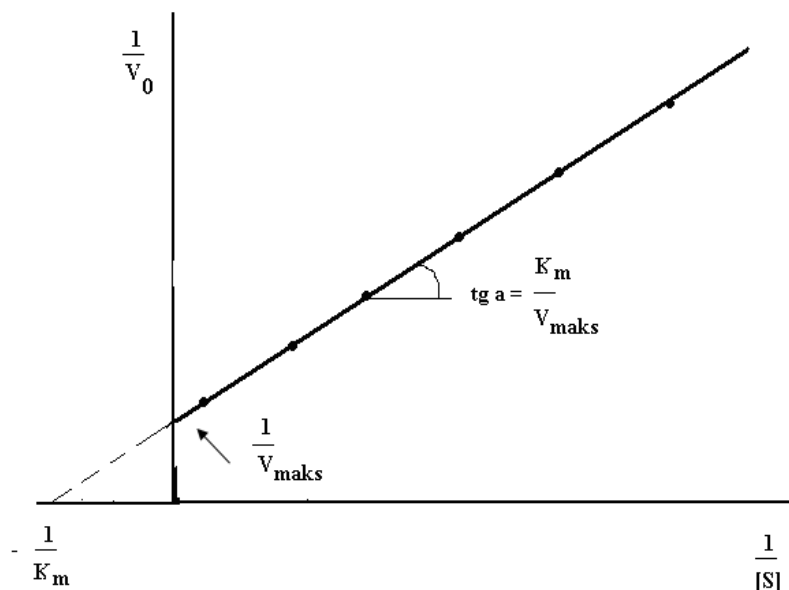
Ma'lum sharoitlar (pH, harorat) da muayyan ferment uchun aniqlangan k_m ko'rsatkichi katta amaliy ahamiyatga ega bo'ladi. Lekin Mixaelis konstantasi k_m ferment-substrat kompleksining haqiqiy dissotsatsiya konstantasi deb bo'lmaydi. Ferment-substrat kompleksini dissotsatsiya konstantasi k_2 / k_3 ni k_s deb belgilanadi. Faqat $k_2 > k_3$, $k_m = k_s$ bo'lganda:

$$k_m = k_s = k_2 / k_3 = [E_{\text{erkin}}][S] / [ES] \quad (9)$$

Shu narsani alohida qayd etish joiz-ki, hamma fermentlarning k_m va k_s ko'rsatkichlari o'zaro yaqin bo'lmaydi. Dissotsatsiya konstantasi teskari bo'lgan kattalik fermentning substratga mos kelish konstantasi hisoblanadi.

Fermentning substratga mos kelish konstantasi qancha yuqori bo'lsa, k_s kattaligi shuncha kam bo'ladi. k_m kattaligini (8) formulaga muvofiq aniqlash mumkin bo'ladi. Lekin aniqlashning aniqlik darajasini yuqoriligini ta'minlash uchun Mixaelis-Menten tenglamasining chiziqli shaklidan foydalanish talab qilinadi. G.Leynunver va D.Berklar Mixaelis-Menten tenglamasiga asoslanib, ikkilamchi teskari kattaliklar uslubida aniqlashni taklif etdilar (2-Rasm):

$$1/V_0 = (k_m/V_{\text{maks}} * 1/[S]) + 1/V_{\text{maks}}$$

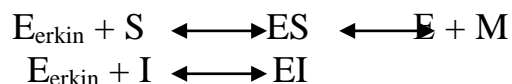


2-Rasm. Ikkilamchi teskari kattaliklarda fermentativ reaksiyalar tezligining substrat konsentratsiyasiga bo`g`liqligi (Leynunver-Berk grafigi)

2-Rasmda ko`rsatilganidek, $1/[S]$ ning $1/V_0$ ga bog`liqligini to`g`ri chiziqli ekstropolyatsiya qilish yo`li bilan absitssa o`qini qisqartirib, k_m va V_{maks} lar hisoblab topiladi.

Har xil ingibitorlar yordamida fermentativ reaksiyalar tezligini o`zgartirish va ingibirlanish qaysi yo`l bilan bo`lib o`tayotganligini aniqlash mumkin. Misol tariqasida qaytar ingibitorlar ta`sirini ba`zi modellarini ko`rib chiqish mumkin.

Raqobatli ingibirlanish:



Bu yerda ingibitor faqat erkin ferment bilan reaksiyaga kiradi va substrat bilan birikkan fermentga birika olmaydi. Mixaelis tenglamasiga binoan raqobatli ingibitor ishtirokida kechadigan fermentativ reaksiya tezligini quyidagi formulaga asoslanib aniqlash mumkin bo`ladi:

$$V_0 = V_{maks} / ((k_m/[S]) * (1 + [I]/k_i))$$

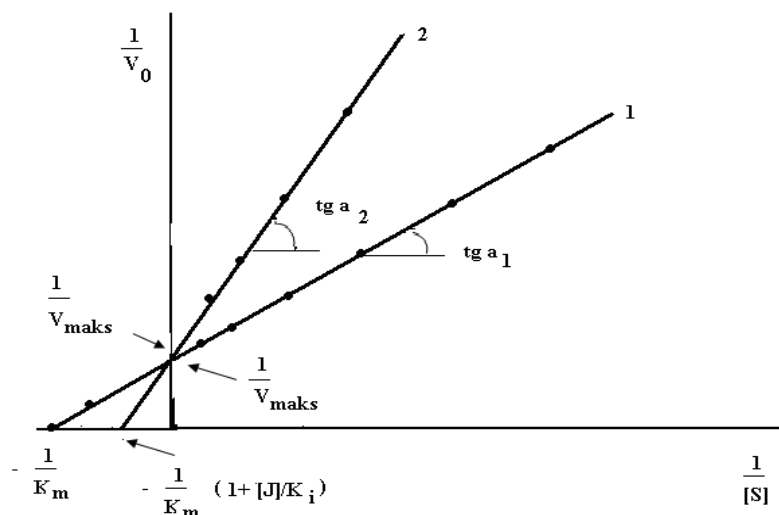
Bu yerda: $[I]$ – ingibitor konsentratsiyasi; k_i – ferment-ingibitor kompleksining dissotsatsiya konstanatasi, u quyiagi formula orqali aniqlanadi:

$$k_i = [E_{erkin}][I] / [EI]$$

Leynunver-Berk tenglamasi:

$$1/V_0 = k_m/V_{maks} ((1 + [I]/k_i) * 1/[S]) + 1/V_{maks}$$

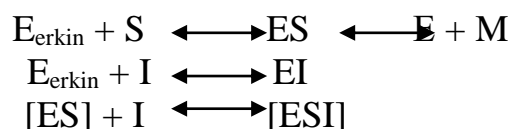
dan foydalanib, chizma tuziladi (3-Rasm).



3-Rasm. Leynunver-Berk koordinatalari reaksiya tezligini substrat konsentratsiyasiga bo`g`liqligiga ingibitorlarning ta`siri

Bu yerda: 1) – ingibitorsiz: $\text{tg } a_1 = k_m/V_{\text{maks}}$; 2) – ingibitor ishtirokida: $\text{tg } a_2 = k_m/V_{\text{maks}} (1+[I]/k_i)$.

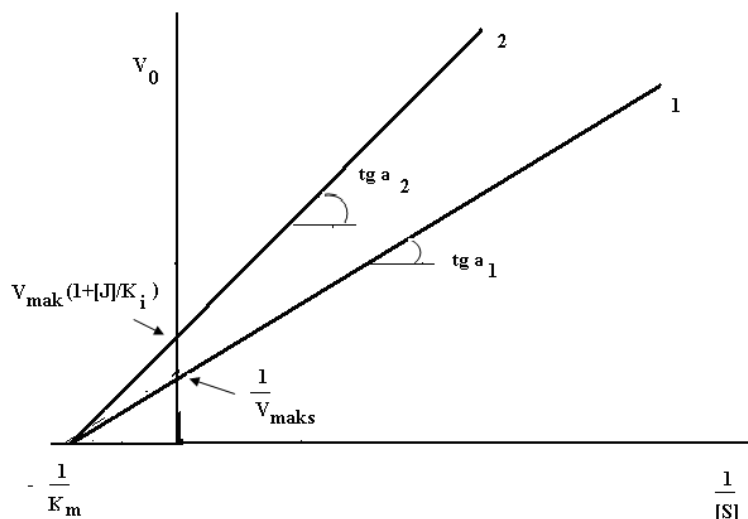
Raqobatsiz ingibirlanish:



Bu xil ingibirlanishda ferment-ingibitor kompleksi substrat ishtirokiga bog`liq bo`lmagan holda hosil bo`ladi, ya`ni bunda [ES] kompleks nafaol bo`ladi. Leynunver-Berk tenglamasi raqobatsiz ingibitor ishtirokida boshlang`ich reaksiya tezligini aniqlashda quyidagicha ko`rinishga ega bo`ladi:

$$\begin{aligned} 1/V_0 &= (1+[I]/k_i) * (1/V_{\text{maks}} + k_m/V_{\text{maks}}[S]) \\ k_i &= [E][I]/[EI] = [ES][I]/[ESI]. \end{aligned}$$

Leynunver-Berk tenglamasidan $1/V_0$ koordinatalari chegarasidagi kattaliklardan foydalanib, konstantalarning miqdor qiymatlarini topish mumkin (4-Rasm).



4-Rasm. Reaksiya tezligining substrat konsentratsiyasiga bog'liqligiga ingibitorlarning (Leynunver-Berk koordinatalaridagi) ta'siri

Bu yerda: 1) – ingibitorsiz: $tg a_1 = k_m/V_{maks}$; 2) – ingibitor ishtirokida: $tg a_2 = k_m/V_{maks} (1+[I]/k_i)$.

Fermentlarni kinetik jihatdan tadqiq qilish ularning substrat bilan o'zaro ta'sirlanish mexanizmlari haqida ma'lumotlarni aniqlash imkonini beradi. Maxsus faollovchilar, ingibirlovchilar, pH va harorat ko'rsatkichlarini o'zgartirish k_m va V_{maks} lar qiymatlarini o'zgarishlarini yuzaga keltiradi. Bu ma'lumotlar fermentning maxsuslik darajasini aniqlashda muhim ahamiyatga ega bo'ladi. Shuningdek, bu ma'lumotlar hujayrada ferment faolligini boshqarish mexanizmlarini tushinishda alohida ahamiyat kasb etadi.

3-LABORATORIYA ISHI:

Mavzu: Fermentlarning xossalarini o'rganish

Ferment preparatlarini uning solishtirma faolligi orqali, ya'ni mg oqsilga nisbatan faollik birligi miqdori bilan tavsiflanadi. Buning uchun avvalo dastlabki reaksiya tezligi aniqlanadi.

Reaksiyaning dastlabki tezligini aniqlash

Ajratib olingan fermentning miqdoriy ko'rsatkichlarini tavsiflaganda uning faolligini ma'lum chegarada bo'lgan pH, harorat va ion tarkibi kabilarda aniqlanadi. Mixaelis-Menten tenglamasidan ma'lumki, fermentativ reaksiyalar uchun substrat konsentratsiyasi $[S]$ birligini aniqlash muhim ahamiyatga ega bo'ladi. Reaksiyaning dastlabki tezligi ferment konsentratsiyasiga to'g'ri proporsional bo'lganligi sababli reaksiyaning dastlabki tezligi V_0 ni aniq baholaydigan ferment konsentratsiyasini aniqlash muhimdir. Bu masalaning yechimini topishning eng oddiy yondashuvi –bu fermentativ reaksiya jarayonida amaliy jihatdan o'zgarmaydigan darajada substratning yuqori konsentratsiyasidan foydalanish hisoblanadi:

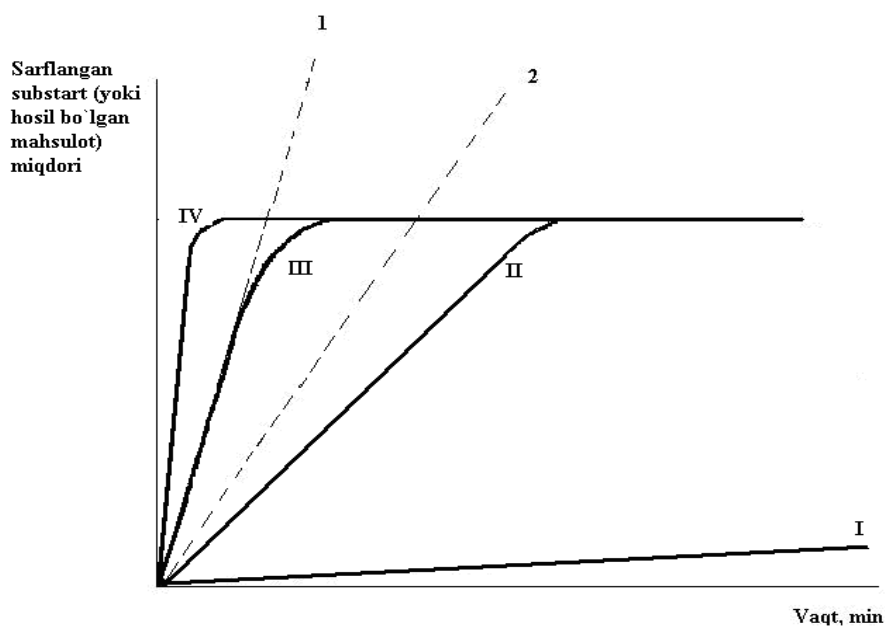
$$S_0 - \Delta [S_t] = [S_0]$$

Bu yerda: $[S_0]$ – substratning dastlabki konsentratsiyasi; $\Delta [S_t]$ – t vaqt birligida substrat konsentratsiyasining o'zgarishi.

Agar substratning past konsentratsiyasi ($[S]=k_m$) dan foydalanilsa, unda reaksiya tezligi asta-sekin susayadi va V_0 ni aniqlashni qiyinlashtiradi. Ferment konsentratsiyasi va substrat konsentratsiyasi o'rtasidagi nisbatlarni o'zgartirish asosida ish yuritib fermentativ reaksiyaning dastlabki tezliigni aniqlashni amalga oshirish mumkin (5-Rasm).

Birinchi holatda (1-Rasm) V_0 ni aniq ravishda aniqlab bo'lmaydi, chunki substratning konsentratsiyasi juda yuqori, ferment konsentratsiyasi esa past. Ferment konsentratsiyasi juda yuqori bo'lganda (2-4-Rasmlar) reaksiya tezligi juda yuqori bo'lganligi uchun V_0 ni aniqlash qiyinlashadi. Fermentativ reaksiyalarning to'g'ri chiziqli yoki to'g'ri chiziqsizligi haqida xulosa chiqarish uchun tezlikni uzluksiz kuzatish yoki ma'lum vaqt birligida faollikni aniqlash orqali erishish mumkin. Oldindan optimal tezlikka ega bo'lish uchun qancha miqdorda ferment olinish kerakligini taxmin qilib bo'lmaydi (2-Rasm). Bu narsanni har xil darajada

suyultirish orqali olib borilgan empirik tajribalar o`tkazish yo`li bilan aniqlash mumkin.

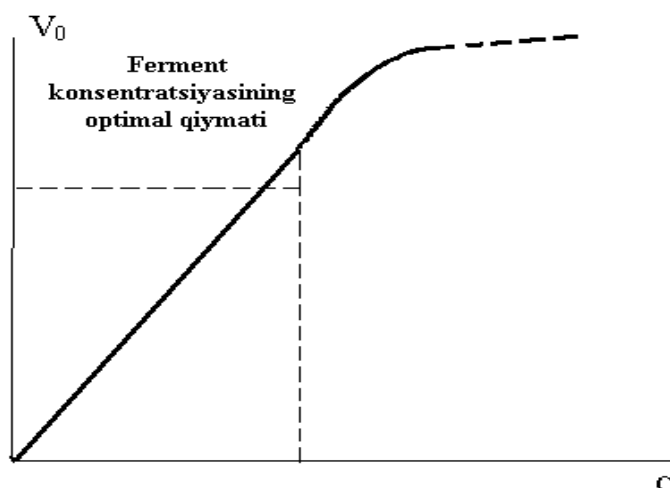


5-Rasm. Ma`lum vaqt birligidagi ferment faolligining o`zgarishi

Bu yerda: 1 – fermentning haqiqiy dastlabki faolligi (II egri chiziq); 2 – fermentning xatoli dastlabki faolligi (IV egri chiziq).

Ish ikki bosqichda olib boriladi. Dastlab namunani 10-50 marta suyultirib, doimiy va maksimal reaksiya tezligini ta`minlaydigan fermentning qaytar konsentratsiyasi topiladi.

Tajribaning ikkinchi bosqichida fermentning doimiy va maksimal tezligini ta`minlaydigan torroq chegaradagi suyultirish darajasi aniqlanadi. Agar fermentativ reaksiyani tezligiga oid sharoit to`g`ri tanlab olinsa, V_0 ning ferment konsentratsiyasiga bog`liqligini chizmada ko`rsatilganidek (6-Rasm), reaksiyaning dastlabki tezligi fermentning konsentratsiyasini chiziqli funksiyasi ekanligi oydinlashadi.



6-Rasm. Fermentativ faollikning ferment konsentratsiyasiga bo`g`liqligi

Mixaelis konstantasini aniqlash

Substratning har xil to`yinshda (100, 50, 20, 10 va undan kam bo`lgan miqdor) gi dastlabki reaksiyalari tezligi topiladi. Tajribaning qolgan sharoitlari (pH, harorat, ion konsentratsiyasi) doimiy bo`ladi. Olingan tajriba ma`lumotlar asosida dastlabki reaksiya tezligining konsentratsiyasini Mixaelisning ([S] dan V_0 ni) koordinatalari va Leynunver-Berkning ($1/[S]$ dan $1/V_0$ ni) teskari koordinatalari usullaridan foydalanib chizmalar chiziladi. Ular asosida k_m va V_{maks} lar hisoblab topiladi.

Fermentlarga xos umumiy hususiyatlar

Amaliy jihatdan fermentlarga xos bo`lgan umumiy hususiyatlar jumlasiga ularning maxsusligi, termolabilligi, fermentlar faolligining haroratga va muhitning pH ko`rsatkichlariga bog`liqligi hamda faolliklarining namoyon bo`lishiga faollovchi va ingibirlovchi moddalarning ta`sir etishi kiradi.

Fermentlar faolligining muhit ko`rsatkichi (pH) ga bog`liqligi

pH ning har xil ko`rsatkichlarida qolgan sharoitlar (ferment konsentratsiyasi, substrat konsentratsiyasi, kofaktorlar, harorat va boshqalar) doimiy bo`lgan holda fermentning dastlabki reaksiya tezligi aniqlanadi. Fermentlarning har xil ion tabiatli sezgirligini hisobga olib bufer eritmalar tanlab olinadi. Fermentativ faollikni pH ning 0,2 chegaradagi kattaligi intervalida aniqlanadi va olingan natijalar bo`yicha dastlabki, maksimal faollik tezliklarining pH ga bog`liqliligi Mixaelis-Menten va Laynunver-Berk tenglamalaridan foydalanilgan holda aniqlanadi.

Fermentlarning maxsusligi

Fermentlarning maxsusligi o`ziga xos hususiyat bo`lib, bu narsa ferment ta`sir etadigan substratning kimyoviy tuzilishi bilan bog`liq bo`ladi. Har bir ferment ma`lum bir substratgagina ta`sir eta oladi.

Amilaza va ureazalarning maxsusligiga xos reaksiylar

Ma`lumki, kraxmal yod bilan ko`k rang hosil qiladi. Uning amilaza ta`sirida parchalanishi dastlab dekstrinlar (amilo-, eritro-, axro-, maltodekstrinlar) ni, keyin maltoza va undan keyin glyukozani hosil bo`lishiga olib keladi. Kraxmalning parchalanishi natijasida parchalanishning axrodekstrin bosqichidan o`tgandan keyin uning fragmentlari yod bilan hech qanday rang hosil qilmaydi. Yodli reaktiv kristall

yodni kaliy yod eritmasida eritib tayyorlangan eritma hisoblanadi. Uni tayyorlash uchun 100 ml distillangan suvda 20 g kaliy yod eritiladi va uni ustiga 10 g yod kristali solinib aralashiriladi. Kraxmalni aniqlash uchun aralashma 5 marta suyultiriladi.

Soya o`simligi dukkagida esa ureaza fermenti bo`lib, u siydikchilni gidrolizlanishini katalizlaydi va reaksiya natijasida ammoniy karbonat hosil bo`ladi:



Bu ikkala ferment uchun ham pH-optimum ko`rsatkichlari juda yaqin, ya`ni so`lak amilazasi uchun pH – 6,8 bo`lsa, soya ureazasi uchun pH – 7,0 hisoblanadi. Shu bois, fermentlarning maxsusligini shu ikki ferment yordamida namoyish qilish o`rinli bo`ladi.

Amilazaning maxsusligini o`rganish uchun so`lak suyuqligidan foydalanilsa, ureza uchun soya o`simligi urug`idan ajratib olingan ekstraktdan foydalaniladi.

So`lak suyuqligini ajratib olish. So`lak suyuqligini ajratib olish uchun og`iz bo`shlig`iga distillangan suv olib chayqatiladi. So`ng yana og`izga distillangan suv olinib, 1 minut davomida ushlab turiladi, bu so`lakli suyuqlik alohida konussimon kolbaga o`tkaziladi va voronkaga filtr joylashtirilib boshqa idishga filtrlanadi hamda distillangan suv yordamida 10 marta suyultiriladi.

Soya urug`idan ureaza fermenti ekstraktini ajratib olish. Quruq soya urug`ini yaxshilab yanchib maydalanadi va ko`p karra petroley efiri bilan ishlov berilib, yog`idan xolis qilinadi. Soyaning yog`sizlantirilgan uni havo haroratida filtr qog`ozi ustida quritiladi va unga 5 °C da besh hajm birligida distillangan suv qo`shiladi. Aralashma sentrifugalanadi va hosil bo`lgan sentrifugatning tarkibi aynan ureaza fermentli ekstrakt hisoblanadi.

Ish tartibi: Ikkita probirkaga (1 va 2) 5 ml dan 0,1 % li kraxmal eritmasi (kraxmal eritmasi oldindan I va KI eritmasi solganda havorang rangga bo`yalishi bu oldindan sinab ko`rilgan bo`lishi lozim) solinadi. So`ng boshqa ikkita probirkaga (3 va 4) oldindan bir necha tomchi fenolftalein qo`shib qo`yillgan siydikchilning 1 % li eritmasidan 5 ml dan solinadi. Bundan keyin 1- va 3-probirkalarga 1 ml dan filtrlangan va suyultirilgan so`lak eritmasi hamda 2- va 4- probirkalarga esa 1 ml dan yuqorida keltirilgan tartibda tayyorlangan ureaza fermenti ekstrakti solinadi. Aralashmalar yaxshilab aralashiriladi va 20 minutga 38-40 °C li termostat yoki suv hammomiga qo`yiladi. Qizdirish nihoyasiga yetgandan so`ng 1- va 2-probirkalarga yod eritmasidan bir tomchi tomiziladi. Bunda 1-probirkadagi aralashmaning ko`k ranggi yo`qoladi, chunki kraxmalga so`lak amilazasi ta`sir etishi tufayli u parchalangan bo`ladi, 2-probirkaga esa ureaza fermenti ekstrakti solinganligi sababli reaksiya sodir bo`lmaydi va ko`k rang saqlanadi. 3-probirkada amilaza fermenti siydikchilga ta`sir eta olmaydi, reaksiya muhitida o`zgarish bo`lmaydi, 4-probirkada ureaza ta`siridagi reaksiya tufayli fenolftalein gulobi rangga bo`yaladi, chunki siydikchil gidrolizlanadi.

Har xil pH ko`rsatkichli fosfat-sitrat bufer eritmalarini tayyorlash

Fikrimizcha, fermentlarning o`ziga xos xususiyatlarini o`rganishda ularning pH optimumini inobatga olinganligi va xilma-xil fermentlarning pH-optimumlari

turlicha bo`lganligi sababli keyingi tajribalarda foydalaniladigan va har xil pH chegarasida bo`lgan fosfat-sitrat bufer eritmasi aralashmasini tayyorlashga oid ko`rsatmalarni keltirish o`rinli bo`ladi.

2-Jadval

Har xil pH ko`rsatkichiga ega bo`lgan bufer eritmalarni tayyorlash

№	pH	Na ₂ HPO ₄ ning 0,2 M eritmasi (ml da)	Limon kislotasini 0,1 M eritmasi (ml da)
1	2,2	0,40	19,60
2	2,4	1,24	18,76
3	2,6	2,18	17,82
4	2,8	3,17	16,83
5	3,0	4,11	15,89
6	3,2	4,94	15,06
7	3,4	5,70	14,30
8	3,6	6,44	13,56
9	3,8	7,10	12,90
10	4,0	7,71	12,29
11	4,2	8,28	11,72
12	4,4	8,82	11,18
13	4,6	9,35	10,65
14	4,8	9,86	10,14
15	5,0	10,30	9,70
16	5,2	10,72	9,28
17	5,4	11,15	8,85
18	5,6	11,60	8,40
19	5,8	12,09	7,91
20	6,0	12,63	7,37
21	6,2	13,22	6,78
22	6,4	13,85	6,15
23	6,6	14,55	5,45
24	6,8	15,45	4,55
25	7,0	16,47	3,53
26	7,2	17,39	2,61
27	7,4	18,17	1,83
28	7,6	18,73	1,27
29	7,8	19,15	0,85
30	8,0	19,45	0,55

Bu xil bufer eritmasi aralashmalarini tayyorlashda Na₂HPO₄ ning 0,2 M eritmasi va limon kislotasining 0,1 M eritmalaridan foydalaniladi. Na₂HPO₄ ning 0,2 M eritmasini tayyorlashda Na₂HPO₄*2H₂O dan 35,62 gr olinib distillangan suv yordamida hajmi 1000 ml ga yetkaziladi. Limon kislotasining 0,1 M eritmasini tayyorlash uchun esa, 21,008 gr limon kislotasi distillangan suv solib hajmi 1000 ml ga yetkaziladi.

Tegishli pH ko`rsatkichlaridagi bufer eritmalar tayyorlashda yuqorida keltirilgan bufer eritmasi komponentlari 2-Jadvalda keltirilgan tarzdagi miqdorlarda aralashtiriladi.

Fermentlarning termolabiligi va pH ko`rsatkichlarining fermentativ reaksiyaga ta`siri

Fermentlar termolabil va muhitning vodorod ioni ko`rsatkichiga sezgir, ya`ni harorat va muhitning pH ko`rsatkichlarini qisman o`zgarishi ham fermentativ jarayonga kuchli ta`sir ko`rsatadi.

Fermentativ reaksiyalarning termolabiligini aniqlash

Ish tartibi: Uchta probirka olib, ularning har biriga 5 ml dan 0,1 % li kraxmal eritmasi solinadi. Bundan keyin ularning birinchisi va ikkinchisiga 1 ml dan distillangan suv, uchinchisiga 1 ml 0,1 n xlorid kislotasi eritmasi solinadi. So`ng birinchi va uchinchi probirkalarga 1 ml dan suyultirilgan so`lak eritmasi, ikkinchi probirkaga shuncha miqdorda qaynatib sovutilgan so`lak eritmasi solinadi.

Uchchala probirka ham 20-25 minutga 37 °C li termostatga joylashtiriladi. Probirkalar termostaddan chiqarilib, muz solingan idishga o`tkazilib sovutiladi va ularning har biriga 1-2 tomchi yodning kaliy yodid eritmasidan tomiziladi. Bunda birinchi probirkadagi kraxmalning parchalanishi yuz berishi tufayli yod eritmasi bilan ko`k rang hosil bo`lmaydi. Ikkinchi probirkada so`lak tarkibidagi amilaza faolsizlanganligi tufayli reaksiya yuz bermaganligi, ya`ni rang o`zgarishsizligi, uchinchi probirkada muhit nordon bo`lganligi sababli reaksiya sekinlashganligi kuzatiladi. Demak, ikkinchi va uchinchi probirkalar yod va kaliy yodid aralashma ta`sirida ko`k rangga bo`yaladi.

Fermentativ reaksiya tezligiga haroratning ta`sirini aniqlash

Ish tartibi: Uchta probirka olib, ularning har biriga kraxmalning 0,25 % li eritmasidan 5 ml dan solinadi. Bundan keyin birinchi probirkani muz solingan idishga, ikkinchi va uchinchi probirkalarni 38 °C li termostatga joylashtiriladi. So`ng birinchi va ikkinchi probirkalarga 0,5 ml dan suyultirilgan so`lak, uchinchi probirkaga xuddi shu miqdorda qaynatib sovutilgan so`lak qo`shiladi. Vaqti-vaqti bilan ikkinchi probirkadagi aralashmadan bir tomchi olib, ustiga 1 ml yodning kaliy yodid eritmasi qo`shib, aralashtiriladi. Shu yo`sinda kraxmalning parchalanish dinamikasi kuzatiladi. Eng oxirida, ikkinchi probirkadan olingan tomchini solinganda solingan yodni kaliy yodid eritmasi bilan rang hosil qilmaydigan payt keladi. Bu narsa kraxmalning so`lak tarkibidagi amilaza ishtirokida to`liq parchalanganligini ko`rsatadi.

Keyin hamma probirkalardagi aralashmalarga 3-4 ml dan 1 n H₂SO₄ qo`shiladi va sovutiladi. Uchchala probirkalarga ham yodning kaliy yodid eritmasidan 2-3 tomchi tomiziladi. Bunda ikkinchi probirkada kraxmalning parchalanishi nihoyasiga yetadi va rang hosil bo`lmaydi, birinchi probirkada kraxmalning parchalanishi qisman yuz berib qizg`ish rang hosil bo`ladi, uchinchi probirkada kraxmal umuman parchalanmaydi va ko`k rang hosil bo`ladi.

Fermentativ reaksiyalar tezligining ferment konsentratsiyasiga bog`liqligini aniqlash

Ish tartibi: To`rtta probirka olib, ularning har biriga 3 ml dan pH ko`rsatkichi 6,8 bo`lgan fosfat-sitrat bufer eritmasi hamda 4 ml dan 0,25 % li kraxmal eritmasi qo`shib aralashtiriladi. So`ng birinchi probirkaga 20 marta, ikkinchi probirkaga 40 marta, uchinchi probirkaga 80 marta va to`rtinchi probirkaga 160 marta suyultirilgan so`lak eritmalaridan 1 ml dan qo`shiladi va bu aralashmalar 38-40 °C li termostatga o`tkaziladi. Bundan keyin vaqti-vaqti bilan namunalardan bir necha tomchi olib, juda kuchli ravishda suyultirilgan yodning kaliy yodli eritmasi bilan aralshtiriladi. Namunalar dastavval ko`k, so`ng qizg`ish-binafsha rangga bo`yaladi. To`rttala probirka uchun ham yod bilan ko`k rangga bo`yalishining yo`qolishi 0,5 minut aniqlikda qayd qilinadi. Bu fursat oralig`i amilolitik parchalanishning nihoyasi hisoblanadi. Tajriba natijalari egri chiziq orqali ifodalanib, bunda absitssa o`qiga amilazaning nisbiy konsentratsiyasi, ordinata o`qiga esa unga tegishli bo`lgan vaqt birligi joylashtiriladi. Amilolitik reaksiya tufayli kraxmalning parchalanishi uchun sarflangan vaqt reaksiya tezligiga teskari proporsional bo`ladi.

So`lak amilazasining amilolitik faolligini va pH-optimumini aniqlash

Ish tartibi: Yettita probirka olib, ularning har biriga 5 ml dan fosfat-sitrat buferining har xil pH ko`rsatkichlariga ega bo`lgan aralashmasi tayyorlanadi. Aralashma komponentlarini miqdorlarini yuqorida keltirilgan 2-jadval asosidagi pH ko`rsatkichlari mos bo`lgan tarzda olinadi:

Probirka №	1	2	3	4	5	6	7
Aralashmani 2-jadvaldagi №	10	15	17	21	24	27	30
pH	4,0	5,0	5,4	6,2	6,8	7,4	8,0

So`ng har bir probirkaga kraxmalning 0,25 % li eritmasidan 4 ml dan va suyultirilgan so`lak eritmasidan 1 ml dan solinadi. Hamma probirkalar tezda 38 °C li termostatga ko`chiriladi. Vaqti-vaqti bilan hamma probirkalardagi aralashmalardan bir necha tomchi namunalar alohida probirkalarga ko`chirilib, o`ta suyultirilgan yodning kaliy yodli aralashmasi bilan aralashtiriladi. Dastlab aralashmalar ko`k rang bersa, ma`lum vaqt o`tgandan keyon qizg`ish-binafsha, keyin esa qizil rangga bo`yaladi va nihoyat yod bilan rang hosil qilmay qo`yadi.

Bunda beshta probirka (3, 4, 5, 6, 7) larda ko`k rangning yo`qolishi kuzatiladi va bu rangning yo`qolishi jadalligida tegishli minut hisobidagi raqamlarni 0,5 minut aniqligida kechadigan amilolitik faollik qiymatlariga o`tkaziladi:

- 3) 1:60=0,017
- 4) 1:8=0,125
- 5) 1:5=0,2
- 6) 1:14=0,071
- 7) 1:85=0,011

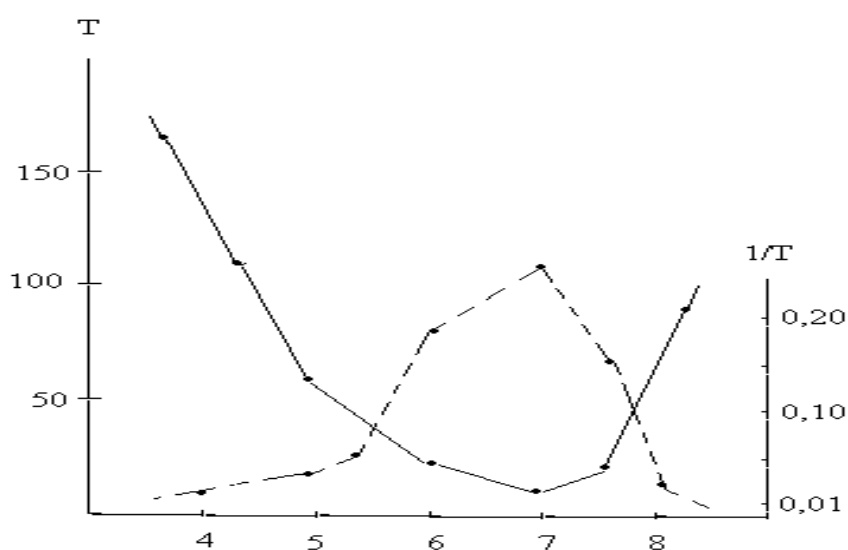
Shu olingan raqamlar asosida jadval tuziladi (3-Jadval):

3-Jadval ma`lumotlarini egri chiziq tarzida ifodalasa bo`ladi. Bunda absitssa chizig`iga pH ko`rsatkichini, chap ordinata chizig`iga kraxmal parchalanishiga muvofiq keladigan vaqt (minut hisobida) va qo`shimcha ordinata (o`ng tomonda) chizig`iga amilolitik faollikning 5 minutdagi ulushini qo`yib chiziladi (7-Rasm).

3-Jadval

So`lak amilazasi faolligini pH optimumini aniqlash natijalari

pH	Kraxmalni gidroliz qilish vaqti (minut hisobida)	0,5 minut aniqligida kechadigan amilolitik faollik (1/T minut hisobida)
4,0	160	0,006
5,0	110	0,009
5,4	60	0,017
6,2	8	0,125
6,8	5	0,200
7,4	14	0,071
8,0	85	0,011



7-Rasm. So`lak amilazasi faolligini pH optimumini aniqlash natijalari

Bu yerda: T – kraxmalni gidrolizlanish vaqti, minut hisobida; 1/T – 0,5 minut aniqligida kechadigan amilolitik faollik (1/minut hisobida).

3-Jadval va 7-Rasmga asoslanib, eng qisqa muddatda fermentativ faollikni namoyon qiladigan pH ko`rsatkichni (6,8) so`lak amilazasining pH-optimumi deb hisoblash mumkin.

So`lak amilazasi faolligiga faollovchilar va ingibirlovchilarning ta`sirini o`rganish

So`lak amilazasiga past konsentratsiyali NaCl tuzi faollovchi omil sifatida ta`sir ko`rsatadi. Xususan, dializ qilingan so`lak amilazasini kraxmalga nisbatan faolligi yo`qoladi. Xuddi shuningdek, ba`zi metal tuzlari fermentlarga faollovchi ta`sir ko`rsatishi va boshqalari ingibirlovchi ta`sir ko`rsatishi mumkin.

Ish tartibi: Uchta probirka olib, ularga 5 tomchidan 0,5 % li kraxmal eritmasidan tomiziladi, birinchi probirkaga 10 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 8 tomchi suv bilan 2 tomchi 1 % li NaCl eritmasi, uchinchisiga 8 tomchi suv bilan 2 tomchi 1 % li CuSO₄ eritmasi tomiziladi, hammasiga 5 marta suyultirilgan so`lakdan 10 tomchidan qo`shib, yaxshilab aralashtirilib, xona haroratida qoldiriladi. 5 minutdan keyin uchchala probirkaga ham 10 tomchidan distillangan

suv, 1-2 tomchidan 0,1 % li yod eritmasidan solib aralashtiriladi, ularning ustiga tajribadagi uchchala probirkadagi aralashmaning har biridan 2-3 tomchidan alohida probirkalarga tomiziladi. Yod bilan qilinadigan reaksiya 10-15 minutda yana takrorlanadi. Birinchi probirkadagi suyuqlik binafsha yoki qizil rangga, ikkinchisi qizil yoki sariq, uchinchi esa ko`k rangga kiradi. Demak, ikkinchi probirkada kraxmal yaxshiroq gidrolizlangan, uchinchisida umuman gidroliz ketmagan. Ish natijasi jadvalda (4-Jadval) qayd qilinadi.

4-Jadval

Amilaza faolligiga faollovchi va ingibirlovchilarning ta`siri

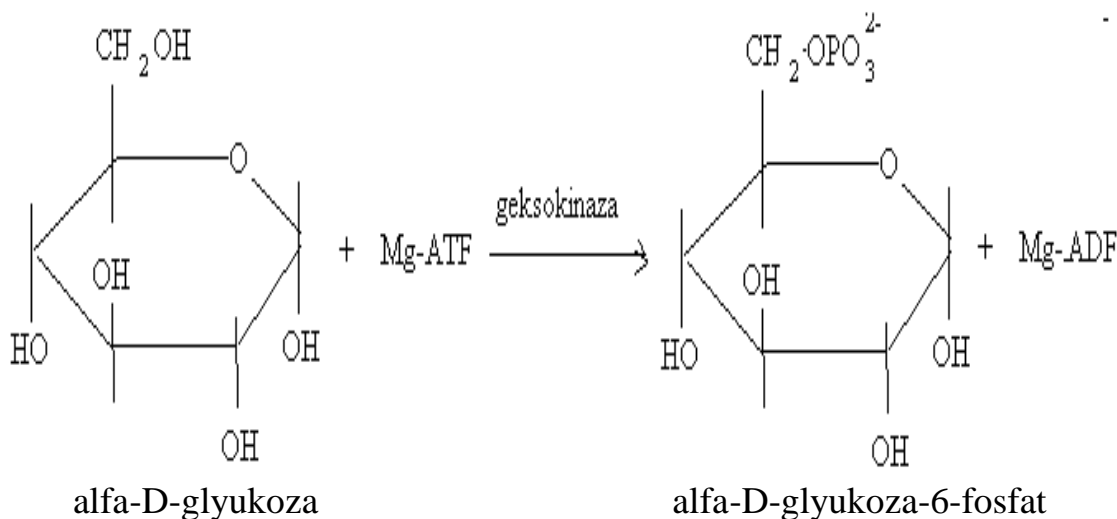
№	Ferment	Substrat	Fermentning ta`sir etish vaqti, min	Reksion aralashmaning yod bilan bergan ranggi		
1	So`lak amilazasi	Kraxmal	5			
2	So`lak amilazasi	Kraxmal	10			
3	So`lak amilazasi	Kraxmal	15			
Xulosa:						

2. FERMENTLARNI AJRATISH, TOZALASH VA FAOLLIGINI ANIQLASH

1-AMALIY ISH:

Mavzu: Geksokinaza fermentini ajratish, tozalash va faolligini aniqlash

Geksokinaza ATF va Mg ishtirokida alfa-D-glyukozadan alfa-D-glyukoza-6-fosfat hosil bo`lish reaksiyasini katalizlaydigan ferment hisoblanadi:



Bu fermentning molekulyar massasi 54000 Da, pH – optimumi 7,5 ga teng. Geksokinazani ajratish uchun eng qulay biologik material non pishirishda foydalaniladigan xamirtirush hisoblanadi.

Kerakli reaktivlar:

1. Xamirtirush – 1 kg.
2. 0,02 M fosfat bufer (pH – 7,0, ion kuchi 0,1 bo`lgan) eritmasi, tarkibi:
 - a) KH_2PO_4 – 2,8 g;

- b) K_2HPO_4 – 4,6 g;
 - c) D-glyukoza – 5,0 g;
 - d) EDTA – 0,37 g;
 - e) H_2O – 1 litrgacha.
3. 0,02 M atsetat bufer (pH – 5,0, ion kuchi 0,013 bo`lgan) eritmasi, tarkibi:
- a) CH_3COOH (muz sirka kislota) – 0,4 ml;
 - b) CH_3COONa (suvsiz) – 1,1 g;
 - c) D-glyukoza – 5,0 g;
 - d) EDTA – 0,37 g;
 - e) H_2O – 1 litrgacha.
4. Atsetat bufer (pH – 4,5, ion kuchi 0,05 bo`lgan) eritmasi, tarkibi:
- a) CH_3COOH (muz sirka kislota) – 4,3 ml;
 - b) CH_3COONa (suvsiz) – 4,3 g;
 - c) D-glyukoza – 5,0 g;
 - d) EDTA – 0,37 g;
 - e) H_2O – 1 litrgacha.
5. D-glyukoza.
6. EDTA.
7. Na_2HPO_4 ning 0,2 M ertimasi.
8. CH_3COOH ning 3 n ertimasi.
9. EDTA eritmasi (bir litr suvga 1,5 g) da qayta perekristallizatsiyalangan $(NH_4)_2SO_4$ ning quruq kukuni.
10. DEAE-sellyuloza.
11. KM – sellyuloza.
12. KCl ning 0,3 M eritmasi.
13. NaCl ning 0,4 M ertimasi.

Xamirtirushni quritish va ekstraksiyalash. Non pishirishda foydalaniladigan xamirtirush xona haroratida quritiladi, natijada 1 kg xamirtirushdan 200 g quruq kukun qoladi. Qurtilgan xamirtirushni chinni havonchada yaxshilab ezib maydalanadi va uning 100 g ga tarkibida 1 mM EDTA bo`lgan Na_2HPO_4 ning 0,2 M ertimasidan 400 ml qo`shib suspenziyalanadi. Aralashma 37 °C da 3 soat davomida inkubatsiyalanadi. Bundan keyin 0 °C da 30 minut oraliq`i (5000 g) da sentrifugalanadi. Cho`kma usti suyuqligi keyingi bosqichda foydalaniladi, cho`kma tashlab yuboriladi.

Muhit pH ko`rsatkichini o`zgartirish asosida cho`ktirish. Cho`kma usti suyuqligi muz solingan idishga ko`chiriladi va aralashma doimo aralastirilib turilgan holda CH_3COOH ning 3 n eritmasidan kam-kam solib, pH ko`rsatkichi 4,5 ga yetkaziladi (bu jarayon uchun 1,5-2,0 soat vaqt talab qilinadi). Aralashma 4 °C li sharoitda kelasi kungacha qoldiriladi, so`ng 10000 g da, 20 minut davomida sentrifugalanadi.

Ammoniy sulfat yordamida cho`ktirish. Oldingi bosqichda olingan supernatantni quruq ammoniy sulfat kukunidan foydalanib, to`yinish darajasini 0,39 (100 ml aralashmaga 24 g) yetkaziladi. Bir soat muddat o`tgandan keyin aralshma sentrifugalanadi. Cho`kma tashlab yuboriladi. Supernatantning to`yinish darajasini oshirib (100 ml ga $(NH_4)_2SO_4$ dan yana 10 g qo`shib) 0,55 yetkaziladi. Aralashma 15000 g da 30 minut davomida sentrifugalanadi. Cho`kmaga pH 7,0 bo`lgan fosfat

buferidan 20 ml qo`shib eritladi va hosil bo`lgan eritma shu buferning o`zida dializlanadi. Dializ jarayonida dializlashda foydalanilayotgan bufer eritma yangisi bilan 2-3 marta almashtiriladi. Bunda hosil bo`lgan cho`kma sentrifugalash yo`li bilan ajratib olinadi va tashlab yuboriladi.

Geksokinazali aralashmani DEAE-sellyulozali kolonkada xromotografiya o`tkazish yo`li bilan tozalash. DEAE – sellyulozali kolonka tegishli yo`riqnomaga muvofiq ravishda tayyorlanadi. Kolonka (3x25 sm li) fosfat buferi eritmasi yordamida muvozanatlanadi. Kolonkaga yuqorida olingan sentrifugat kiritiladi va muayyan fosfat buferining 0-0,3 M KCl eritmali chiziqli gradiyentli eritmasidan foydalanib, elyutsiya o`tkaziladi. Elyutsiya tezligi 90 ml/soat ni tashkil qilib, fraksiyalarni 9 ml hajmda yig`ib olinadi va ularda oqsil miqdori hamda ferment faolligi ko`rsatkichlari aniqlanadi.

Geksokinaza faolligi kuzatilgan fraksiyalar birlashtiriladi va yana qaytadan DEAE-sellyulozada xromotografiya (rexromotografiya) qilinadi. Buning uchun 1,4x15 sm li kolonka tayyorlanib, fosfat buferi (reaktivlar ro`yxatida 2-turgan) ning tarkibida 0,3 M KCl bo`lgan chiziqli gradiyentli eritmasidan foydalanib, elyutsiya o`tkaziladi. Elyutsiya tezligi 35 ml/soat ni tashkil qiladi. Fraksiyalarni 4 ml hajmdan yig`iladi va ulardagi oqsil miqdori hamda fermentativ faollik aniqlanadi.

Fermentativ faollikni namoyon qilgan fraksiyalar yig`ib olinadi. Olingan oqsil eritmasini dializlagandan so`ng liofilizatsiyalash mumkin. Bu liofilangan enzim ikki xil izoenzimdan iborat bo`ladi. Bu izoenzimlarni ajratish uchun qo`shimcha ravishda KM-sellyulozada va qaytadan DEAE-sellyulozada xromotografiya o`tkazish lozim bo`ladi.

KM – sellyulozali kolonkada xromotografiya o`tkazish yo`li bilan tozalash. Yuqoridagi fermentativ faollikka ega bo`lgan fraksiyalar birlashtirilib, ultrafiltratsiyalash orqali konsentrlanadi va pH ko`rsatkichi 5,0 bo`lgan atsetat buferiga qarshi dializ qilinadi. KM – sellyuloza yo`riqnomaga muvofiq tayyorlanadi, 1,4x15 sm li kolonkaga joylashtirilib, oqsil eritmasi kolonkadagi gelga singgandan so`ng undan KM – sellyuloza bilan bog`lanmagan oqsilni chiqib ketishini ta`minlash uchun kolonkaning 1-2 hajmida atsetat bufer eritmasi o`tkaziladi. Keyin pH ko`rsatkichi 5,0 bo`lgan tarkibida 0-0,4 M NaCl bo`lgan bufer eritma o`tkaziladi. Elyutsiya tezligi 20 ml/soat. Fraksiyalar 4 ml dan ajratiladi. Elyuat ultrafiltratsiya yordamida konsentrlanadi va fosfat buferiga qarshi dializlanadi.

DEAE-sellyulozada pH – gradiyenti asosida xromotografiya o`tkazish. DEAE – sellyuloza solinib, fosfat buferi bilan muvozanatlangan 1,2x27 sm li kolonkaga yuqorida keltirilgan tartibda dializlangan oqsil kiritiladi. Elyutsiyani pH gradiyentida 150 ml fosfat va 150 ml atsetat buferlarini chiziqli gradiyent asosida aralastirib, o`tkazish orqali olib boriladi. Kolonkaga 10 mg atrofida oqsil kiritish mumkin bo`ladi. Elyutsiya tezligi 20 ml/soat. Fraksiyalar 4 ml hajmda yig`iladi. Xromotografiya jarayonida pH ko`rsatkichi 7,0 dan 5,0 gacha bo`lgan gradiyent chegarasida o`zgaradi. Kolonkadan taxminan 100 ml eritma o`tgandan so`ng izoenzim A va undan keyin izoenzim B ga tegishli oqsillar ajralib chiqadi.

Geksokinazaning faolligini aniqlash

Kerakli reaktivlar:

1. 5×10^{-2} M tris-HCl bufer eritmasi, pH – 8,0;

2. 5×10^{-1} M D-glyukoza eritmasi;
3. $4,5 \times 10^{-2}$ M – $MgCl_2$ eritmasi;
4. $2,25 \times 10^{-2}$ M ATF eritmasi;
5. $1,0 \times 10^{-2}$ M NADF eritmasi, pH – 6,5;
6. Glyukoza – 6 – fosfat degidrogenaza (fermentning asosiy eritmasi tris-HCl buferi bilan 50-100 marta suyultiriladi) eritmasi;
7. Geksokinaza – 0,5 mg/ml (faollikni aniqlash oldidan tris-HCl buferi bilan suyultiriladi) eritmasi.

Barcha eritmalar bidistillangan suvda tayyorlanadi.

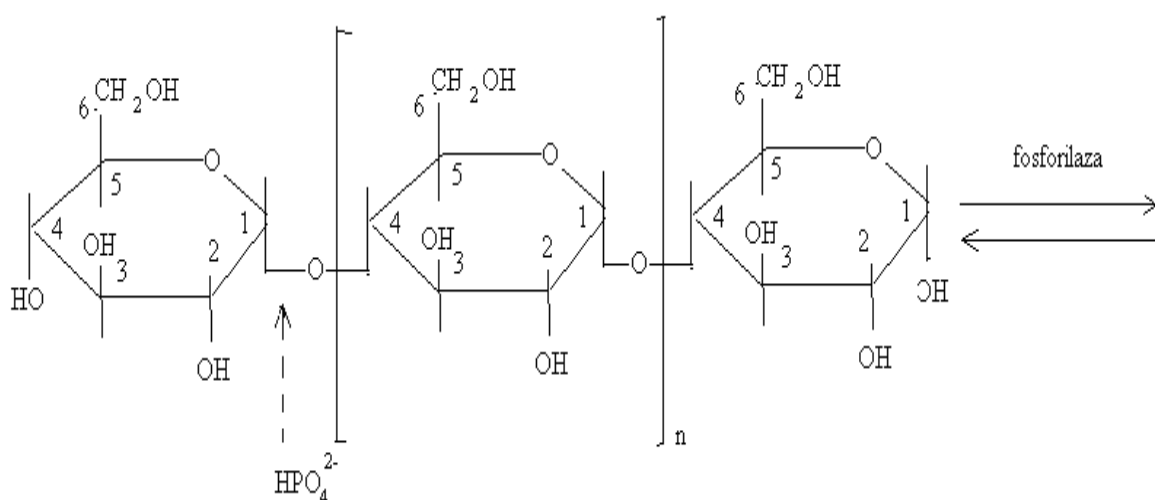
Ish tartibi: Spektrofotometrning kyuvetasi 0,4 ml substrat aralashmasi (D-glyukoza, $MgCl_2$ va ATF) 0,1 ml NADF eritmasi, 0,01-0,04 ml glyukoza-6-fosfat degidrogenaza bo`lgan eritma, tris-HCl buferining 50 mM li eritmasidan qo`shib, umumiy hajmi 3 ml ga yetkaziladi va yaxshilab aralashtirilgandan keyin unga 0,01-0,02 ml geksokinaza eritmasini qo`shish orqali reaksiya boshlab yuboriladi. Reaksiyaning boshlanishi sekunlarda qayd qilinadi va 340 nm da, har sekund oralig`ida optic zichlikning oshib borishi kuzatiladi. Ajratib olingan ferment preparatini solishtirma faolligi sarhisob qilinadi.

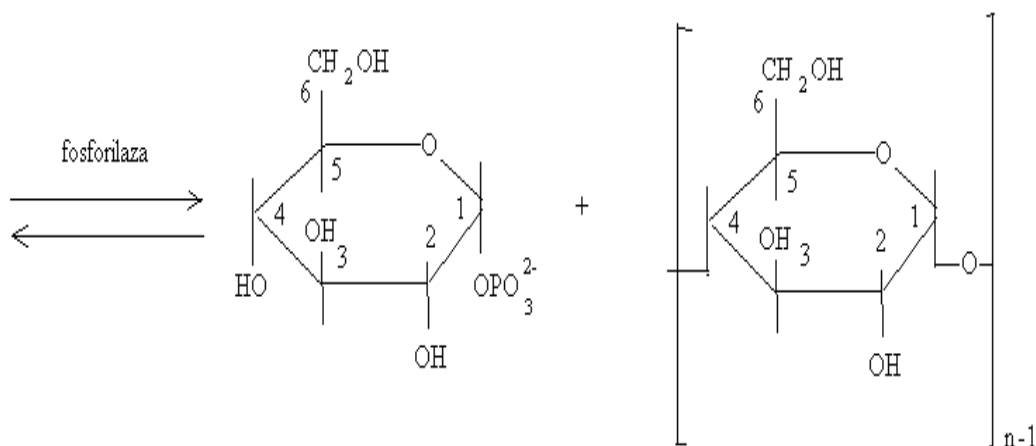
Oqsil miqdorini spektrofotometrik yo`l bilan 280 nm da konsentratsiyasi 1,0 mg/ml bo`lganda ko`rsatkichi 0,9 ga tengligiga qarab aniqlanadi.

2-AMALIY ISH:

Mavzu: Glikogenfosforilaza fermentini ajratish, tozalash va faolligini aniqlash

Glikogenfosforilaza fermenti skelet mushagida ikki xil shaklda, ya`ni fosforilaza-B-nofaol va fosforilaza-A-faol shakllarda uchraydi. Fosforilaza-B ning to`rtlamchi tuzilmasi dimer, Fosforilaza-A niki esa tetramer bo`ladi va ularning molekulyar massalari o`zaro mos holda 185000 Da va 370000 Da ga teng bo`ladi.





Fosforilaza-B ni fosforilaza-A ga aylanishi serin-14 qoldig`ini fosforilaza-B-kinaza fermenti ta`sirida fosforlanishi orqali yuz beradi. Bu ferment yuqoridagi reaksiyani katalizlaydi.

Kerakli reaktivlar:

1. 1,5 mM EDTA eritmasi, pH – 7,0;
2. 1 n CH₃COOH eritmasi;
3. KHCO₃ quruq holda (qayta kristallangan);
4. (NH₄)₂SO₄ xona haroratida to`yingan eritmasi, pH – 7,0;
5. 1,0 mM tris-HCl bufer eritmasi, pH – 7,5;
6. 2,0 M tris eritmasi;
7. 0,3 M sisiteinning yangi tayyorlangan eritmasi, pH – 7,5;
8. NH₄OH, konsentrlangan;
9. 1,0 M Mg(CH₃COO)₂*4H₂O eritmasi;
10. 0,1 M AMF eritmasi, pH – 7,0.

Barcha eritmalar kimyoviy toza rusumli reaktivlardan tayyorlangan bo`lishi va bidistillangan suvda tayyorlanishi lozim.

Fosforilaza-B ni quyoning skelet mushagidan ajratib olish

Quyinni so`yib, uning oyoqlarini mushaklari ajratib olinadi va yog`lardan xolis qilinadi. So`ng go`sht massasi go`sht maydalagichda maydalanadi.

Ekstraksiyalash. Tarozida 150-200 g mushak massasi tortib olinib, ustiga teng miqdorda (150-200 ml) 1,5 mM EDTA eritmasi (pH – 7,0) dan qo`shiladi va xona haroratida 15-20 minut ekstraksiyalanadi. Hosil bo`lgan massani ikki qavatli doka orqali siqib ekstrakti ajratiladi va qolgan massa bilan ekstraksiyani yana shu yo`sinda takrorlanadi va hosil bo`lgan ekstraktlar birlashtiriladi. Birlashtirilgan ekstrakt solingan idish muz solingan idishga ko`chiriladi hamda 1 n sovutilgan CH₃COOH eritmasi qo`shib, pH 5,2-5,5 gacha nordonlashtiriladi. Bundan so`ng eritma sentrifugalanadi. Tajribaning qolgan qismlarini hammasi sovuq sharoitda o`tkaziladi. Cho`kma usti suyuqligi Byuxner voronkasi orqali suv nasosidan foydalanib filtrlanadi va hosil bo`lgan eritma quruq KHCO₃ qo`shib nordon holga keltiriladi.

Ammoniy sulfat yordamida fraksiyalash. Neytral holga keltirilgan oqsilli aralashmaga doimo aralashtirgan holda ammoniy sulfat qo`shib, to`yinish darajasi

0,41 bo`lgunga (1 litrga 700 ml) qadar to`yintiriladi. Ammoniy sulfat eritmasini oldindan ammiak yordamida pH 7,0 ga yetkazilgan bo`lishi lozim. Oqsilning cho`kishi uchun eritma sovuq sharoitda bir kecha qoldiriladi, cho`kma sentrifugalash (15 minut, 10000-15000 g) yo`li bilan ajratiladi. Cho`kma EDTA eritmasida 25 °C da eritiladi. Aralashma ammoniy sulfat qoldig`idan xolis bo`lishi uchun 3-5 litr hajmdagi pH 7,5 bo`lgan 1 mM tris-HCl bufer eritmasiga qarshi dializlanadi.

Dializatga harorat yordamida ishlov berish. Dializ nihoyasiga yetgandan so`ng, unga 0,3 M sistein eritmasini umumiy hajmda konsentratsiyasi 0,03 M bo`lguncha EDTA niki 0,01 bo`lguncha qo`shiladi, pH esa 2,0 M tris eritmasidan foydalanib, 7,5 ga yetkaziladi. Aralashma 37 °C da 30 minut inkubatsiyalanadi. Bunda hosil bo`lgan cho`kma sentrifugalash orqali ajratib tashlanadi. Cho`kma usti suyuqligi 2,0 M tris eritmasi qo`shib, pH 8,5 gacha yetkaziladi va shu sharoitda yana 30 minut inkubatsiyalanadi. So`ng aralashma xona darajasigacha sovutiladi, sovutilgandan keyin 1 n sirka kislotasi yordamida neytrallanadi. Bunda hosil bo`lgan cho`kma 10 minut 3000 g tezligida sentrifugalab ajratib tashlanadi. Supernatant fermentli eritma hisoblanadi.

Kristallizatsiyalash. Fermentli eritma sovutiladi va unga 1,0 M $Mg(CH_3COO)_2$, 0,1 M AMF eritmalaridan 1/100 hajmda qo`shiladi. Odatda, oqsil kristallizatsiyasi 20-30 minut o`tgandan keyin boshlanadi.

Qayta kristallizatsiyalash. Kristall suspenziyasi 2-4 °C, 15000 g da sentrifugalanadi, cho`kma 25-30 °C da 3-5 ml sistein eritmasi (0,003 M) da eritiladi. Bunda oqsilning erimagan qismi xona haroratida sentrifugalsh yo`li bilan ajratib olinib tashlab yuboriladi. Fermentli eritma (supernatant) ga $Mg(CH_3COO)_2$ va AMF eritmalaridan o`zaro mos holda 0,01 va 0,001 M konsentratsiyaga yetgunicha qo`shiladi. Eritma sovutilganda fermentning kristallanishi sodir bo`ladi. Suspenziya 4 °C da saqlanadi va keyingi tajribalar uchun ishlatiladi.

Fosforilaza-B ning faolligini aniqlash

Fosforilaza-B faolligini aniqlash glikogen sinteziga asoslanib olib boriladi:



Uslub glyukoza-1-fosfatdan ajralib chiqqan anorganik fosforni miqdorini aniqlashga asoslangan bo`lib, bunda glyukozani o`zi glikogen molekulasiga birikadi. Aniqlash ATF ishtirokida olib boriladi.

Kerakli reaktivlar:

1. 0,05 M Na-beta-glitserofosfat-sistein bufer eritmasi, pH – 6,8;
2. Na-beta-glitserofosfat-sistein bufer eritmasida tayyorlangan glikogenning 4 % li eritmasi;
3. Na-beta-glitserofosfat-sistein bufer eritmasida tayyorlangan 0,064 M glyukoza-1-fosfat eritmasi;
4. 0,05 M AMF eritmasi, pH – 7,0;
5. Yuqoridagi usulda ajratib olingan fosforilazani suspppenziyani faolligini aniqlashni olib borish oldidan Na-beta-glitserofosfat-sistein bufer eritma bilan 1 mg/ml darajasigacha suyultirilgan aralashma;
6. Fiske va Sobbarou uslubida anorganik fosforni aaniqlash uchun ishlatiladigan reaktiv.

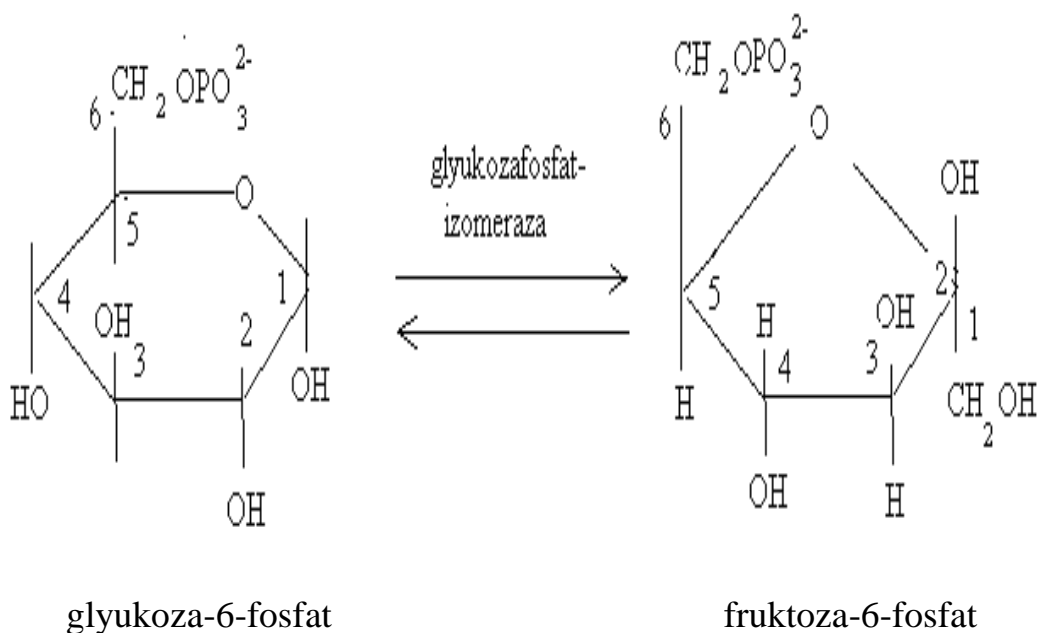
Ish tartibi: Probirkaga 0,2 ml glikogen, fosforilazali eritmadan 0,01-0,02 ml, bufer eritmadan 0,38 ml solinadi va 30 °C da 10 minut davomida inkubatsiyalanadi. Keyin aralashmaga AMF eritmasidan 0,016 ml va glyukoza-1-fosfat eritmasidan 0,2 ml qo`shiladi hamda yaxshilab aralastirilib inkubatsiyalanadi, vaqt sekundomerda qayd qilinadi. Ma`lum vaqtlar oralig`ida (5, 10, 15 minut) reaksiyon muhitdan 0,2 ml dan eritmalar ajratib olinadi. Reaksiyani to`xtatish uchun olingan namunalar 3 ml dan 0,1 n H₂SO₄ solib qo`yilgan probirkalarga solinadi. Bu probirkalarda anorganik fosforning miqdoriy ko`rsatkichi aniqlanadi. Nazorat namunasi sifatida tarkibida AMF ning o`rniga 0,016 ml distillangan suv solingan namuna inkubatsiyalanadi.

Fermentning solishtirma faolligi hisoblab topiladi. Oqsil miqdori Louri usulida aniqlanadi. Beta-glitserofosfat va sistein rangning hosil bo`lishiga xalaqit berganligi sababli oqsilni uch xlorli sirk kislotasi bilan cho`ktirib, ajratiladi va tashlab yuboriladi.

3-AMALIY ISH:

Mavzu: Glyukozafosfatizomeraza fermentini ajratish, tozalash va faolligini aniqlash

Glyukozafosfatizomeraza fermenti glyukoza-6-fosfatni fruktoza-6-fosfatga aylanish reaksiyasini katalizlaydi:



Bu reaksiya qaytar reaksiyadir. Ushbu ferment xilma-xil biologik manbalardan ajratib olingan. Glyukozafosfatizomeraza fermenti ikkita subbirlikdan iborat bo`ladi. Fermentativ reaksiya ATF va glyukonat-6-fosfat tomonidan ingibirlanadi. Molekulyar og`irligi 14000-15000 Da, pH – 8,5, harorat 30 °C bo`lganda glyukoza-6-fosfat uchun Mixaelis konstantasi - 3,1x10⁻⁴ M, fruktoza-6-fosfat uchun esa 1,7x10⁻⁴ M ni tashkil qiladi.

Kerakli reaktivlar:

1. 0,015 M EDTA li eritmada tayyorlangan 0,01 M HCl eritmasi, pH – 7,0;
2. 1,0 M Zn(CH₃COO)₂ eritmasi;
3. 1 n NaOH eritmasi;
4. 0,25 M natriy-sitrat eritmasi, pH – 8,5;
5. (NH₄)₂SO₄ quruq kukun (EDTA li eritmada qayta kristallangan);
6. 0,1 M Mg(CH₃COO)₂*4H₂O eritmasi;
7. 0,5 n NH₄OH eritmasi;
8. 0,025 M EDTA eritmasi, pH – 8,0;
9. Etil spirti;
10. Atseton;
11. 0,2 M CH₃COOH eritmasi;
12. Bentonit;
13. 0,2 M tris-HCl bufer eritmasi, pH – 8,0;
14. 0,1 M Na₂HPO₄ eritmasi;
15. (NH₄)₂SO₄ ning to`yingan eritmasi.

Barcha eritmalar komyoviy toza rusumli reaktivlardan tayyorlangan bo`lishi va bidistillangan suvda tayyorlanishi lozim.

Quyvon mushagidan glyukozafosfatizomeraza fermentini ajratib olish

Fermentni ajratishga qaratilgan barcha ishlar sovuq sharoitda o`tkazilishi lozim.

Ekstraksiyalash. Quyvon mushaklari qonsizlantirilgandan keyin go`sht maydalagichdan o`tkaziladi. Maydalangan 150-200 g go`sht uch hajm 0,01 M KCl qo`shib bir minut davomida gomogenizatsiyalanadi. Gomogenat 30 minut davomida mexanik aralashtirgich yordamida aralashtiriladi va so`ng 15000 g/min tezlikda 15 minut sentrifugalanadi. Bu fraksiyaning hajmi dastlab qo`shilgan KCl ning hajmiga teng deb hisoblanadi (1-fraksiya).

Rux atsetati yordamida fraksiyalash. Yuqorida olingan supernatantga 1,0 M rux atsetati hajm bo`yicha konsentratsiyasi 0,03 M bo`lguncha qo`shiladi, pH ko`rsatkichi esa 1 n NaOH qo`shib, 8,5 ga yetkaziladi. 1-2 soat o`tgandan so`ng oq rangli suspenziya 15000 g/min tezlikda 15 minut sentrifugalanadi. Cho`kma pH 8,5 bo`lgan 0,25 M ammoniy sitratda suspenziyalanadi (bunda 1-fraksiya hajmiga nisbatan 1/5 hajm qo`shiladi) va bir kecha shu holatda qoldiriladi. Kelgusi kuni cho`kma yana 15000 g/min tezlikda 30 minut sentrifugalanadi. Ajratib olingan cho`kma 0,25 M ammoniy sitrat eritmasi bilan yuviladi (bunda 1-fraksiya hajmiga nisbatan 1/15 hajm qo`shiladi). Ikkala eritma birlashtiriladi va qizg`ish loyqali eritma hosil bo`lishi kuzatiladi (2-fraksiya).

Ammoniy sulfat yordamida fraksiyalash. 2-fraksiyani ammoniy sulfatning quruq kukuni bilan 0,33 darajasigacha to`yintiriladi. Cho`kma sentrifugalash usuli bilan ajratib tashlanadi. Supernatantni to`yintirish darajasi ammoniy sulfat yordamida oshiriladi va 0,63 ga yetkaziladi hamda so`ng 15000 g/min tezlikda 30 minut sentrifugalanadi. Ajratib olingan cho`kma pH ko`rsatkichi 8,5 bo`lgan 0,025 M EDTA (2-fraksiyani 1/8 hajmiga teng bo`lgan) eritmasida eritiladi. So`ng aralashma 0,005 M magniy atsetat eritmasiga qarshi bir kech-kunduz dializlanadi. Eritmani qolgan cho`kmasi sentrifugalash orqali ajratib tashlanadi va tiniq eritma hosil bo`lishi kuzatiladi (3-fraksiya).

Spirt yordamida fraksiyalash. 3-fraksiyadagi oqsil miqdori Louri uslubida aniqlanadi va 0,005 M magniy atsetat eritmasida, shu darajada suyultiladiki, bunda undagi oqsil konsentratsiyasi 15 mg/ml bo`lishi kerak. Eritmaga 1 n sovutilgan NaOH qo`shish orqali uning pH ko`rsatkichi 8,6 ga yetkaziladi. Bundan keyin oqsil eritmasini 10 °C li sharoitga ko`chirib, unga sovutilgan 96 % li etil spirit qo`shiladi va aralashmadagi uning konsentratsiyasi 34 % ga yetkaziladi. Oqsil eritmasini harorati 0 °C dan oshmasligini ta`minlash zarur, aks holda u denaturatsiyaga uchraydi. Aralashmaga eng so`nggi ulush spirt qo`shilgandan keyin 20 minut tinch qoldiriladi va -15 °C da 15000 g/min tezlikda 15 minut sentrifugalanadi va ajratib olingan cho`kma tashlab yuboriladi hamda bundan keyin supernatandagi spirtning konsentratsiyasi 64 % ga yetkaziladi. Yana yuqoridagi sharoitda sentrifugalash o`tkaziladi. Hosil bo`lgan cho`kma 3-fraksiyadagi hajmning 1/4 qismicha 0,1 M magniy atsetat qo`shib suspenziyalanadi. Suspenziyalash darajasi oqsilning eritmadagi konsentratsiyasi 15 mg/ml darajasigacha yetishi kerak. Suspenziya 15000 g/min tezlikda 20 minut sentrifugalanadi va tiniq to`q sariq rangli eritma hosil bo`lishi kuzatiladi (4-fraksiya).

Atseton yordamida fraksiyalash. 4-fraksiyaga atseton bilan ishlov beriladi. Buning uchun uning aralashmadagi konsentratsiyasi 40 % ga yetkaziladi. Atseton oldindan -10 °C gacha sovutiladi va uni aralashmaga asta-sekin qo`shib borilib, atsetonning konsentratsiyasi 50 % ga yetkaziladi, bunda harorat 0 °C atrofida bo`lishiga erishish lozim. 10 minutdan keyin o`sha sharoitda yana sentrifugalash o`tkaziladi va hosil bo`lgan cho`kma 4-fraksiya hajmiga nisbatan 1/2 miqdordagi 0,05 M magniy atsetatda eritiladi. Bunda och sariq rangli oqsil eritmasi hosil bo`lishi kuzatiladi (5-fraksiya).

Bentonit yordamida fraksiyalash. 5-fraksiyadagi oqsil miqdori aniqlanadi va keyin undagi oqsilning konsentratsiyasi 7 mg/ml bo`lguniga qadar suyultiriladi. Buning uchun 0,05 M magniy atsetatdan foydalaniladi, uning pH ko`rsatkichi sovutilgan 0,2 n sirka kislotaga qo`shib, 7,4 ga tenglashtiriladi. Oqsil aralashmasi yaxshilab aralashtirilib unga bentonit qo`shiladi (1 g oqsil hisobiga 4 g). Aralashma 10 minut davomida chayqatilib turiladi va undan keyin adsorbentni 15000 g/min tezlikda 30 minut sentrifugalash yo`li bilan ajratib olinadi va tiniq supernatant hosil bo`lishi kuzatiladi (6-fraksiya).

Oqsil eritmasini atseton yordamida konsentrlash. Oqsilni konsentrlash uchun 6-fraksiyaga teng hajmda -10 °C gacha sovutilgan atseton asta-sekinlik bilan qo`shib boriladi, bunda haroratning 0 °C dan oshib ketmasligini nazorat qilish zarur. Atsetonning so`nggi ulushini qo`shib bo`lgandan 10 minut o`tgandan keyin sutsimon oq emulsiya hosil bo`ladi, u 15000 g/min tezlikda sentrifugalanadi. Hosil bo`lgan cho`kma pH ko`rsatkichi 8,0 bo`lgan 0,2 M tris eritmasi (6-fraksiya hajmini 1/100 qismi hisobida) da eritiladi va pH ko`rsatkichi 7,0 ga teng bo`lgan 0,01 M fosfat eritmasining 1000 karra hajmiga nisbatan bir kecha davomida dializlanadi. Olingan eritma 7-fraksiya hisoblanadi.

Kristallizatsiya. 7-fraksiyaning oqsil konsentratsiyasi 30 mg/ml bo`lgan eritmasini neytrallangan (NH₄)₂SO₄ ning to`yingan eritmasidan qo`shib, 0,45 darajasigacha to`yintiriladi. Bunda eritmaning qayishqoqligi kuchayadi. Paydo bo`lgan cho`kma zudlik bilan ajratib tashlanadi va keyin eritmani to`yinish darajasi (NH₄)₂SO₄ ning

to`yingan eritmasidan foydalanib, 0,48-0,50 ga yetkaziladi. Asta-sekin shoyisimon ipchalarga o`xshash cho`kma hosil bo`ladi. Keyingi kunlari eritmaning to`yinish darajasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ning to`yingan eritmasi yordamida 0,1-0,2 ga oshirib boriladi. Aralshmaning to`yinish darajasi 0,8 ga yetgandan 2 kun keyin fermentativ faollikka ega bo`lgan oqsil kristallanadi. Oqsil cho`kmasini ajratib olish uchun aralashma 20000 g/min tezlikda 60 minut sentrifugalanadi. Cho`kma glyukozafosfatizomeraza hisoblanib, uni pH ko`rsatkichi 7,0 ga teng bo`lgan 0,1 M fosfat buferida eritib, bu fermentning faolligini aniqlashga qaratilgan keyingi tajribalarda foydalaniladi.

Glyukozafosfatizomeraza fermentini faolligini aniqlash

Glyukozafosfatizomeraza fermentini faolligini ikki xil uslubda: kimyoviy va enzimatik uslublarda aniqlash mumkin. Kimyoviy uslubda aniqlash fruktoza-6-fosfatni rezorsin (Selivanov reaktivi) bilan reaksiyasiga asoslangan.

Kerakli reaktivlar:

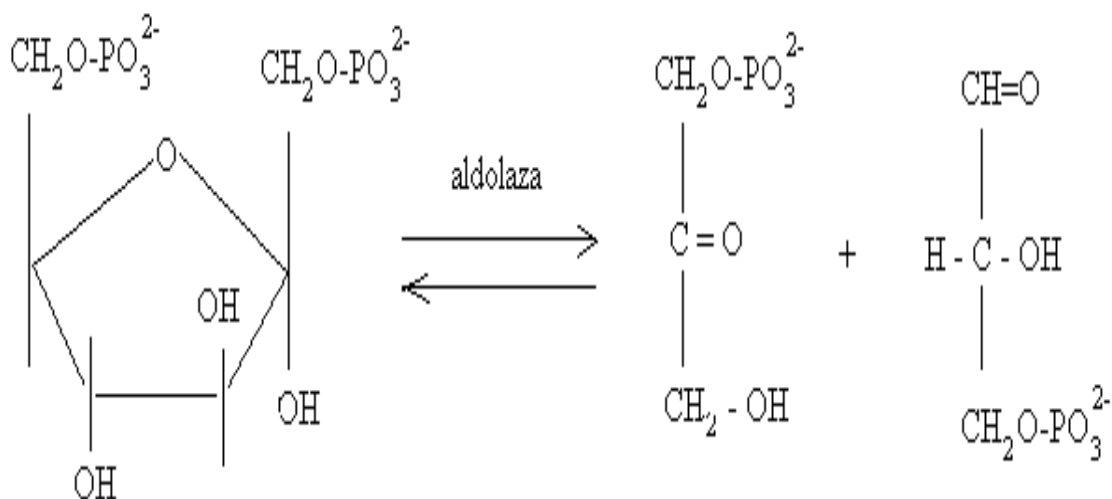
1. 5×10^{-2} M tris-HCl bufer eritmasi, pH – 8,5;
2. 5×10^{-2} M tris-HCl bufer eritmasida tayyorlangan 1×10^{-2} M glyukoza-6-fosfat eritmasi;
3. Selivanov reaktivi (0,05 g rezorsin 100 ml 20 % li HCl da eritib tayyorlanadi);
4. Yuqoridagi uslublar asosida ajratib olingan glyukozafosfatizomeraza preparati faolligini aniqlashdan oldin bidistillangan suvda 0,5-1,0 mg/ml konsentratsiyada suyultiriladi.

Ish tartibi: To`rtta probirka olib, har biriga 0,1 ml dan glyukoza-6-fosfat va 0,35-0,37 ml tris-HCl bufer eritmalaridan solinadi. So`ng 2-3 minut intervalda navbatma-navbat 0,04 ml ferment eritmasi tomizilib aralashtiriladi va reaksiyaning boshlanish vaqti sekundomerda qayd qilinadi. Inkubatsiya 30°C li suv hammomida o`tkaziladi. Reaksiyani to`xtatish uchun ma`lum vaqt birligida (1,2,3, ... minut) har bir probirkaga 8,3 n HCl dan 3,5 ml dan solinadi. Bundan keyin fruktozani miqdorini aniqlash tajribasi o`tkaziladi. Nazorat namunasi uchun ferment eritmasi o`rniga bidistillangan suvdan foydalaniladi. So`ng ferment preparatining solishtirma faolligi hisoblab chiqiladi.

4-AMALIY ISH:

Mavzu: Aldolaza fermentini ajratish, tozalash va faolligini aniqlash

Aldolaza fermenti fruktoza-1,6-difosfatni 3-fosfoglitseraldegid va fosfodioksiatsetongacha parchalanish reaksiyasini katalizlaydigan ferment hisoblanadi:



fruktoza-1,6-difosfat
fosfoglitseraldegid

fosfodioksiatseton 3-

Mushak to`qimasining aldolaza fermenti molekulyar og`irligi 160000 Da bo`lgan tetramer hisoblanadi. Mixaelis konstantasi (pH – 7,1, 25 °C da) fruktoza – 1,6 – difosfat uchun $1,4 \times 10^{-5}$ M, pH – optimumi 7,0 ga teng.

Quyvon mushagidan aldolaza fermentini ajratib olish

Kerakli reaktivlar:

1. Ammoniy sulfatning to`yingan eritmasi, pH – 7,5 va 5,7;
2. 5 mM EDTA eritmasi, pH – 7,5;
3. Ammiak.

Barcha reaktivlarni bidistillangan suvda tayyorlanadi.

Ekstraksiyalash. Sovitilgan quyvon mushaklari go`sht maydalagichdan o`tkaziladi. Maydalangan go`shtdan 200-300 g olib, unga teng hajmda 5 mM EDTA eritmasi qo`shib, 10 minut aralashtiriladi va so`ng sentrifugalanadi. Cho`kmaga dastlabki olingan hajmda EDTA eritmasi qo`shiladi va ekstraksiya yana takrorlanadi hamda resentrifugalanadi. So`ng oldingi va keyingi ekstraktlar birlashtiriladi.

Ammoniy sulfat bilan fraksiyalash. Ekstraktning pH ko`rsatkichi ammiak qo`shib 7,5 ga yetkaziladi. Unga teng hajmda to`yingan ammoniy sulfat eritmasi (pH – 7,5) qo`shiladi va aralashtiriladi hamda 10-15 minut tinch qoldirilgandan keyin sentrifugalanadi. Supernatantning to`yoinish darajasini 0,52 (har 100 ml ga 4 ml dan pH ko`rsatkichi 7,5 bo`lgan to`yingan ammoniy sulfat eritmasi qo`shib) ga yetkaziladi. Bundan keyin ammiak qo`shib, pH 8,5 gacha oshiriladi. Hamma ishlar sovuq sharoitda olib boriladi. Aralashma bir kecha sovuq sharoitda qoldiriladi. Kristallizatsiyani kuchaytirish uchun aralshmani sovutib, so`ng xona haroratida eriguncha saqlab va keyin yana sovutish orqali tezlashtirish mumkin. Aralashma sentrifugalanib, cho`kmasi ajratiladi.

Qayta kristallash. Cho`kma 5 mM EDTA (pH – 7,5) yordamida oqsil konsentratsiyasi 1-2 % bo`lishini inobatga olib eritiladi. Aralshмага asta-sekinlik

bilan ammoniy sulfatning to'yingan eritmasi (pH ko'rsatkichi 7,5) dan qo'shib aralashtiriladi va amorf cho'kma hosil bo'lgunicha qo'shib boriladi. Bu amorf cho'kma sentrifugalash yo'li bilan ajratiladi va tashlab yuboriladi. Sentrifugatga kristallizatsiya boshlanguncha ammoniy sulfat eritmasi qo'shiladi. Aldolazaning kristallari suspenziya holida ammoniy sulfating yarim to'yingan eritmasida sovitkichda saqlanadi.

Aldolaza fermentini faolligini aniqlash

Aldolaza fermentining faolligini aniqlashning ham kimyoviy va enzimatik usublari mavjud. Quyida kimyoviy uslubda aldolaza fermentining faolligini aniqlash usuli bayoni keltirilgan.

Aldolaza fermenti faolligini aniqlash uslubi ishqoriy-labil triozofosfatdagi fosfatni miqdoriy ko'rsatkichini aniqlashga asoslangan. Reaksiya fosfotriozalarni bir-biriga bog'lovchi sianid ishtirokida yuz beradi.

Kerakli reaktivlar:

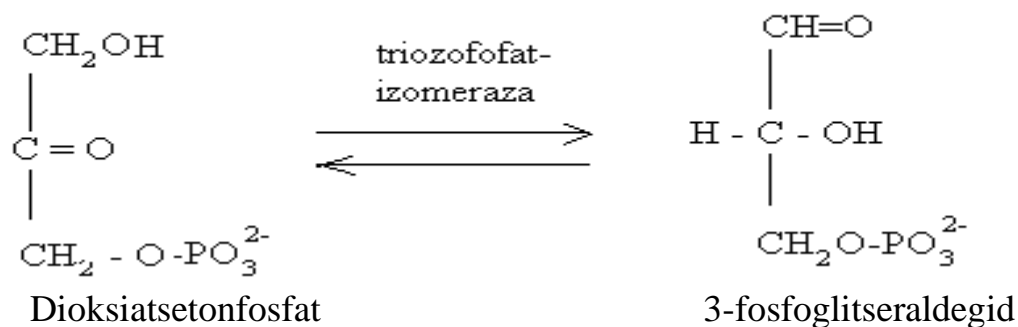
1. 0,1 M glitsin bufer eritmasi, pH - 9,0 (EDTA ning 5 mM eritmasida tayyorlangan);
2. 0,01 M fruktoza-1,6-difosfat eritmasi (0,1 M glitsin bufer eritmasi (pH - 9,0) da tayyorlangan);
3. 0,1 M KCN eritmasi (sianid bilan olib boriladigan ishlarda avtomatik pipetkadan foydalanib, ishni mo'rili shkafda olib boorish kerak);
4. 2 n NaOH eritmasi;
5. 2 n HCl eritmasi;
6. Fiske-Subbarou uslubida fosforni aniqlash uchun kerak bo'lgan reaktiv.

Ish tartibi: To'rtta probirka olib, ularga 0,1 ml dan fruktoza-1,6-difosfat va 0,2 ml KCN eritmalari solinadi. So'ng 2-3 minut intervalda sekundomerda qayd qilib, har bir probirkaga 0,1 ml aldolazali eritma solinadi. Birinchi probirkadagi inkubatsiyani 30 sekund, ikkinchisida 60 sekund, uchinchisida 90 sekund va to'rtinchisida 120 sekund o'tgandan keyin NaOH ning 2 n eritmasidan 0,4 ml dan qo'shib reaksiya to'xtatiladi. Namunalardagi aralashmalar yaxshilab aralashtirilgandan keyin 20 minut davomida xona haroratida qoldiriladi va bundan keyin 2 n HCl yordamida neytrallanadi. So'ng aralashmalar tarkibidagi anorganik fosfor miqdori aniqlanadi. Nazorat namunasi sifatida aldolaza o'rniga 0,1 M glitsin buferi qo'shilgan namunadan foydalaniladi.

5-AMALIY ISH:

Mavzu: Triozofosfatizomeraza fermentini ajratish, tozalash va faolligini aniqlash

Triozofosfatizomeraza fermenti dioksiatsetonfosfatni 3-fosfatglitseraldegidga aylanish reaksiyasini katalizlaydi:



Bu ferment molekulyar massasi 54000 Da ga teng boʻlgan dimer boʻlib, ikkita bir xil subbirlikdan tashkil topgan. Ferment molekulasida 10 ta sistein qoldigʻi boʻladi. Faollikni namoyon boʻlishi pH koʻrsatkichi 8,0-9,0 gacha boʻlib, ogʻir metallar taʼsirida faolligi toʻxtaydi.

Quyong mushagidan triozofosfatizomeraza fermentini ajratib olish

Kerakli reaktivlar:

1. EDTA ishtirokida (1,5 g/l) qayta kristallangan ammoniy sulfat kukuni;
2. Beta-merkaptotanol;
3. Atseton;
4. Sefadeks G-100;
5. Tarkibida 3,0 mM EDTA va 1,0 mM beta-merkaptotanol boʻlgan 0,05 M natriy fosfatli bufer eritmasi, pH – 7,0;
6. Tarkibida 3,0 mM EDTA va 1,0 mM beta-merkaptotanol boʻlgan 0,05 M tris-HCl bufer eritmasi, pH – 7,5;
7. 1,5 mM EDTA eritmasi, pH – 5,2.

Barcha eritmalar bidistillangan suvda tayyorlanadi.

Ekstraksiyalash. 150 g quyong mushagi sovitilgan goʻsht maydalagichdan oʻtkaziladi. Soʻng maydalangan mushak boʻlakchalariga 200 ml 1,5 mM EDTA eritmasi qoʻshib, 1 minut davomida gomogenatsiyalanadi. Hosil boʻlgan gomogenat 30 minut davomida mexanik aralshtrigich yordamida aralashtiriladi va keyin 10000 g/min tezlikda 15 minut sentrifugalanadi. Supernatant shisha filtr orqali filtrlanadi. Choʻkma 130 ml 1,5 mM EDTA eritmasi qoʻshib takroran gomogenizatsiyalanadi, yana 30 minut aralashtirib, yuqorida keltirilgan tartibda sentrifugalanadi. Ekstraktlar birlashtirilib, hajmi 1,5 mM EDTA qoʻshib 310 ml ga yetkaziladi hamda unga aralashma tarkibidagi merkaptotanolning oxirgi konsentratsiyasi 1,0 mM boʻlgunga qadar beta-merkaptotanol qoʻshiladi.

Atseton yordamida fraksiyalash. Mushak ekstraktiga doimo aralashtirib turgan holda va 3 minut davomida 166 ml sovitilgan (-15 °C) atseton qoʻshiladi. Bunda atsetonning soʻnggi konsentratsiyasi 35 % ga yetadi. Aralashmaning harorati 7 °C dan oshmasligi kerak. Aralashma 10 minut davomida 10400 g/min tezlikda sentrifugalanadi va hosil boʻlgan choʻkma tashlab yuboriladi. Supernatantga yana atseton qoʻshib (1 litr supernatantga 183 ml) uning konsentratsiyasi 45 % ga yetkaziladi. Aralashma 10 minut davomida 10400 g/min tezlikda sentrifugalanadi va yana hosil boʻlgan choʻkma tashlab yuboriladi. Supernatantga yana atseton

qo`shib (1 litrga 195 ml) uning so`nggi konsentratsiyasi 54 % ga yetkaziladi. Aralashma yana sentrifugalanadi va supernatant tashlab yuboriladi.

Harorat ta`sirida ishlov berish. Cho`kma tarkibida 3 mM EDTA va 1 mM beta-merkaptotanol bo`lgan (pH – 7,0) 0,05 M natriy fosfatli bufer eritmasini qo`shib, oqsilning konsentratsiyasi 40 mg/ml darajasiga yetkazishni e`tiborga olib eritiladi. Eritma atsetonning qoldiqlaridan xolis bo`lish uchun 25 °C da 12 soat davomida magnitli aralashtirgich yordamida aralashtiriladi. Aralashmaning hajmi shu bufer eritmani qo`shish asosida 30 ml ga yetkaziladi va uni 10 minut davomida ko`piklatmasdan asta aralashtirib suv hammomida 51 °C gacha isitiladi. Shu holatda aralashma yana 30 minunt saqlanadi. Hosil bo`lgan cho`kma 15400 g/min tezlikda 15 minut sentrifugalash yo`li bilan cho`ktirib olib tashlanadi. Supernatantda oqsilning konsentratsiyasi aniqlanadi.

Gelfiltratsiya. Tarkibida 100 mg oqsili bo`lgan oqsilli eritma (supernatant) sefadeks G-100 to`ldirilgan tarkibida 3 mM EDTA va 1 mM beta-merkaptotanol bo`lgan 0,05 M tris-HCl bilan muvozanatlangan kolonka (2x60 sm li) dan o`tkaziladi. Supernatantning qolgan qismi saqlash uchun olib qo`yiladi va uni kolonkani o`zidan takror va takror gelfiltratsiya qilish uchun foydalanish mumkin. Elyutsiya shu yuqoridagi bufer eritmasi yordamida amalga oshiriladi. Faollik ko`rsatkichi eng yuqori (1000 va undan yuqori) bo`lgan fraksiyalar birlashtiriladi. Nisbiy faollik birligi sifatida 1 mk mol glitseraldegid-3-fosfatni 1 minut davomida fosfodioksiatsetonga aylanishiga oid ko`rsatkich qabul qilinadi. Birlashtirilgan fraksiyalar gelfiltratsiyada foydalanilgan va oldindan ammoniy sulfat bilan to`yintirilgan tris bufer eritmasiga qarshi dializlanadi. Hosil bo`lgan cho`kma oqsil 20 minut davomida 15900 g/min tezlikda sentrifugalanadi.

Kristallizatsiya. Cho`kma tarkibida 3 mM EDTA va 1 mM beta-merkaptotanol bo`lgan 0,05 M tris-HCl (pH – 7,5) da eritilib, bufer eritmaning oqsil konsentratsiyasi 4,25 mg/ml ga yetkaziladi va ammoniy sulfat kukuni qo`shib, uning to`yinish darajasini 3,4 M gacha yetkaziladi. Bunda hosil bo`lgan cho`kma 20 minut davomida 15900 g/min tezlikda sentrifugalab ajratib olinadi va ajratib olingan cho`kma tashlab yuboriladi. Supernatant yana ammoniy sulfat qo`shib konsentratsiyasi 3,5 M ga yetkaziladi va yuqoridagi tartibda yana sentrifugalash o`tkazilib, ajratib olingan cho`kma tashlab yuboriladi. Supernatant yana ammoniy sulfat qo`shib, aralashmadagi uning konsentratsiyasi 3,6-3,7 M ga yetkaziladi va bir kecha sovuq sharoitda qoldiriladi. So`ng sentrifugalash yo`li bilan cho`kma, ya`ni ferment preparati ajratib olinadi va undan tajribalarda foydalaniladi.

Triozofosfatizomeraza fermentini faolligini aniqlash

Triozofosfatizomeraza fermentini faolligini aniqlash fermentlarning o`zaro bog`langan tizimida olib boriladi va bunda qo`shimcha ferment sifatida glitseraldegid-3-fosfatdehidrogenaza fermentidan foydalaniladi. Fermentativ reaksiya uchun substrat vazifasini fosfodioksiatseton bajaradi. Reaksiyani borishini spektrofotometr orqali NADH ni oshishini baholash yo`li bilan qayd qilinadi.

Kerakli reaktivlar:

1. 0,02 M trietanolin-HCl bufer eritmasi, pH – 7,9;
2. Fosfodioksiatseton;
3. NAD;

3. Ammiak.

Barcha eritmalar tarkibida 5,0 mM EDTA bo`lgan bidistillangan suvda tayyorlanadi.

Ekstraksiyalash. Barcha ishlar sovuq sharoitda o`tkaziladi. Quyoning mushagi go`sht matdalagichdan o`tkaziladi. Maydallangan mushakka 1,5 hajm tarkibida 5,0 mM EDTA bo`lgan suv qo`shiladi va mexanik aralashtirgich yordamida 40 minut aralashtirilib turiladi. Ekstrakt bir soat davomida 2500 g/min tezlikda sentrifugalash orqali ajratib olinadi.

Ammoniy sulfat yordamida "tuzlash". Ekstraktning hajmi o`lchanadi va unga ozdan ammoniy sulfat (har 100 ml ga 50,5 g) qo`shib, 0,7 darajagacha to`yintiriladi. Hosil bo`lgan cho`kma oldin sentrifugalash yo`li bilan, keyin esa sentrifugatni filtrlash orqali ajratib tashlanadi. Tiniq filtratni pH ko`rsatkichi aniqlanadi va konsentrlangan ammiak yordamida pH 8,5 ga yetkaziladi. Eritma sovuq xonada bir kecha qoldiriladi. Kelasi kun kristallar hosil bo`ladi. Ularni sovuq sharoitda 12000 g/min tezlikda sentrifugalash yo`li bilan ajratib olinadi.

Qayta kristallizatsiyalash. Cho`kma tarkibida 5,0 mM EDTA (pH – 7,5) bo`lgan eritmada tarkibidagi oqsilning miqdori 15-20 mg/ml konsentratsiyaga ega bo`lgunga qadar eritiladi. Tiniq eritmaga magnitli aralashtirgich bilan aralashtirilib turgan holda 100 ml eritmaga 41,8 g hisobida ammoniy sulfatning quruq kukunidan qo`shiladi va aralashmaning pH ko`rsatkichi 8,5 ga yetkaziladi. Bunda kristallizatsiya yuz beradi va shu holatda bir kecha qoldiriladi hamda ertasi kuni sentrifugalash yo`li bilan cho`kma ajratib olinadi. Shu yo`sinda ajratib olingan ferment preparati ammoniy sulfatning 2,4 M eritmasida kristall suspenziyasi holatida saqlanadi.

Glitseraldegid-3-fosfatdegidrogenaza fermentini faolligini aniqlash

Glitseraldegid-3-fosfatdegidrogenaza fermentini faolligini aniqlash spektrofotometrik uslubda olib boriladi va ish to`g`ri reaksiya natijasida optic zichlikning 340 nm dagi o`zgarishini o`lchash orqali amalga oshiriladi.

Kerakli reaktivlar:

1. 0,1 M glitsinli bufer eritma, pH – 8,9;
2. 0,1 M pirofosfatli bufer eritma, pH – 8,3;
3. NAD;
4. 3-fosfoglitseraldegid yoki fosfotriozalar aralashmasi;
5. Natriy arsenat.

Barcha reaktivlar bidistillangan suvda tayyorlanadi.

Ish tartibi: Spektrofotometrning kyuvetasiga umumiy hajmi 3 ml bo`lgan reaksion aralashma solinadi. Bu reaksion aralashma pH ko`rsatkichi 8,9 ga teng bo`lgan 1,0 mM fosfoglitseraldegid, 0,5 mM NAD, 5,0 mM natriy arsenat, 0,1 M glitsinli bufer eritmalaridan tashkil topadi. Reaksion aralashmaga tarkibida glitseraldegid-3-fosfatdegidrogenaza fermenti bo`lgan eritmadan 0,03-0,05 ml qo`shish bilan reaksiya boshlanadi. Optik zichlikning 340 nm dan osha borishi 60 sekund davomida qayd qilib boriladi, so`ng fermentning solishtirma faolligi hisoblab topiladi.

Aralashmadagi oqsilning miqdori spektrofotometrik yo`l bilan 280 nm da oqsil bilan bog`langan koenzimning miqdoriga qarab aniqlanadi (1ml ni tarkibida 1

aralashtirgich yordamida 3 soat aralashtirilib turiladi, so`ng 22000 g/min tezlikda bir soat sentrifugalanadi.

Ammoniy sulfat yordamida fraksiyalash. Ekstraktga asta-sekin (bir soat davomida) yaxshi maydalangan ammoniy sulfatning kukuni qo`shib boriladi va uning konsentratsiyasi 2,4 M ga yetkaziladi. Bundan keyin suspenziyani mexanik aralashtirgich yordamida 6 soat aralashtirib turiladi. Cho`kma 15000 g/min tezlikda 40 minut sentrifugalash yo`li bilan ajratib olinadi va tashlab yuboriladi. Supernatantga ammoniy sulfat qo`shib, uning konsentratsiyasi 3,2 M ga yetkaziladi. Aralashma ikki soat tinch holatda qoldiriladi va cho`kmasi 15000 g/min tezlikda 30 minut sentrifugalash yo`li bilan cho`ktirib olinadi hamda ajratib olingan cho`kmadan keyingi bosqich ishlarda foydalaniladi.

Harorat yordamida ishlov berish. Olingan cho`kmaning 1/4 qismi pH ko`rsatkichi 7,6, tarkibida ammoniy sulfat bo`lgan 0,05 M trietanolaminli bufer eritmada oqsil konsentratsiyasi 40 mg/ml darajaga yetgunicha qo`shib eritiladi va 5 minut davomida 50 °C da inkubatsiyalanadi. So`ng tezda muz solingan idishga qo`yib sovitiladi va bunda denaturatsiyaga uchragan bir qism oqsil 15000 g/min tezlikda 40 minut sentrifugalash yo`li bilan ajratib olinib, tashlab yuboriladi. Sentrifugatdagi oqsilni ammoniy sulfatni kukunini aralashmadagi konsentratsiyasi 3,2 bo`lgunga qadar yetkazib, sentrifugalash yo`li bilan cho`ktiriladi. Cho`kma tarkibida 0,01 M EDTA bo`lgan suvda eritiladi va xuddi shu eritmaga qarshi dializlanadi. Dializdan so`ng oqsilning aralashma tarkibidagi konsentratsiyasi 50-60 mg/ml bo`lib qoladi. Undan tozalashning keyingi bosqichlarida foydalaniladi.

Gelfiltratsiya. Buning uchun 2x40 sm li kolonka tayyorlanadi. U sefadeks G-75 bilan

to`ldirilib tarkibida 1,0 mM EDTA bo`lgan 0,1 M ammoniy sulfat eritmasi bilan muvozanatlanadi. Kolonkaga oqsil eritmasidan 2 ml kiritib, muvozanatlash uchun foydalanilgan eritma bilan elyutsiyalanadi. Elyuatlarda fermentativ faollik va oqsil miqdori aniqlanadi. Bundan keyin fermentativ faollikni namoyon qilgan fraksiyalar birlashtiriladi. Gelfiltratsiyani yangi olingan oqsil namunasi bilan takrorlash mumkin. So`ng birlashtirilgan elyuatlarga ammoniy sulfat kukuni qo`shib, konsentratsiyasi 3,2 M ga yetkaziladi va sentrifugalab cho`ktiriladi. Cho`kma tarkibida 1,0 mM EDTA bo`lgan 0,01 trietanolaminli (pH – 8,0) bufer eritmada eritiladi va shu buferga qarshi dializlanadi.

DEAE-sefadeksda xromotografiya. DEAE-sefadeks to`ldirilgan kolonka (1,5x40 sm li) tayyorlanadi. Kolonka yuqorida ko`rsatilgan bufer eritma yordamida muvozanatlanadi. Kolonkaga 3 ml da eritilgan 100 mg oqsil kiritiladi va shu bufer eritmani o`zi yordamida elyutsiya o`tkaziladi. Elyuatlar tarkibida oqsilning miqdori va ularning fermentativ faolligi aniqlanadi. Fermentativ faolligi yuqori bo`lgan fraksiyalar birlashtiriladi. Bu aralashmaga ammoniy sulfat tuzi kukuni qo`shib, uning konsentratsiyasi 3,0 M ga, pH ko`rsatkichi esa 6,0 ga tenglashtiriladi. Bunda 90 % oqsil ammorf cho`kma holida cho`kadi.

3-fosfoglitserratkinaza fermentini faolligini aniqlash

3-fosfoglitserratkinaza fermentini faolligini aniqlashda bu ferment glitseraldegid-3-fosfatdehidrogenaza fermenti bilan o`zaro bog`langan tizim

ekanligini inobatga olib, qo`shimcha ferment sifatida glitseraldegid-3-fosfatdehidrogenaza fermentidan foydalaniladi. Bu ferment ishtirokida tizimga NADH kiritish evaziga 1,3-difosfoglitserin kislotani 3-fosfoglitseraldegidgacha qaytarilishi sodir bo`ladi. Reaksiya tezligini 340 nm da optik zichlikning kamayishini baholash orqali aniqlash mumkin.

Kerakli reaktivlar:

1. Tarkibida 8,0 mM MgSO₄ bo`lgan 0,08 M trietanolaminli bufer eritma, pH - 7,6;
2. NADH;
3. ATF;
4. 3-fosfoglitserin kislota;
5. Gitseraldegid-3-fosfatdehidrogenaza;
6. Yuqoridagi tajribada ajratib olingan kristall suspenziyani tarkibida 5,0 mM EDTA (pH – 7,5) bo`lgan bidistillangan suvda eritilib, konsentratsiyasi 3-5 mg/ml ga yetkazilgan aralashma.

Ish tartibi: Umumiy hajmi 3 ml bo`lgan reaksiyon muhit tarkibida 7,0 mM MgSO₄; 0,25 mM NADH; 2,4 mM ATF; 12,0 3-fosfoglitserin kislota va 50 mkg glitseraldegid-3-fosfatdehidrogenaza bo`lgan 8,0 mM trietanolaminli bufer eritmadan iborat bo`ladi. Reaksiya tarkibida 0,03-0,05 ml 3-fosfoglitseratkinaza bo`lgan eritmani qo`shish asosida boshlanadi. Reaksiyani 340 nm da optik zichlikning o`zgarishini kuzatish asosida baholanadi. Fermentning solishtirma faolligi yuqorida keltirilgan uslublar yordamida aniqlanadi, oqsil miqdori esa spektrofotometrik va Louri usullarida aniqlanadi. Fermentning xossalari yuqorida keltirilgan uslublar asosida o`rganiladi.

Foydalanilgan adabiyotlar ro`yxati

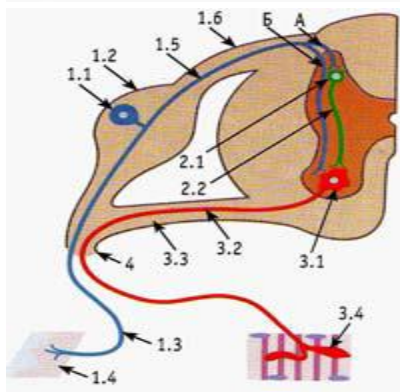
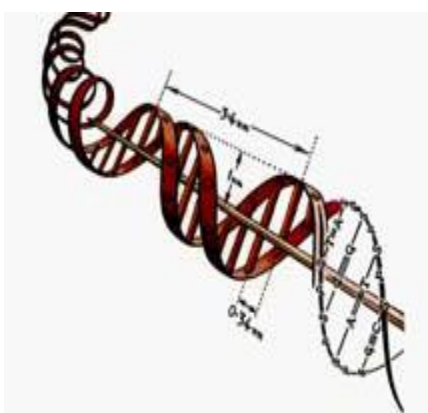
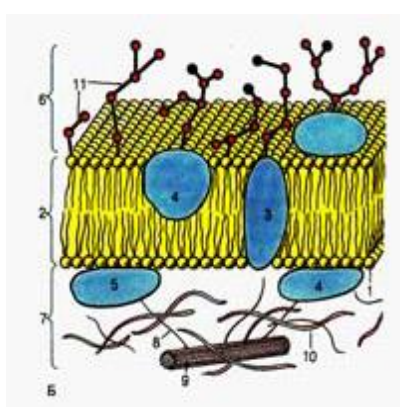
1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. -М: Медицина, 1990.
2. Биотехнология. Под ред. А.А.Баева. –М: Наука, 1984.
3. Бохински Р.Современные воззрения в биохимии. –М: Мир, 1987.
4. Диксон Н., Уэбб Э. Ферменты. 3 том. –М: Мир, 1982.
5. Дроздов Н.С., Матеранская Н.П., Практикум по биологической химии. – М: Высшая школа, 1970.
6. Кретович В.А. Введение в энзимологию. –М: Наука, 1986.
7. Кушманова О.Д., Ивченко Г.М. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. –М: Медицина, 1974.
8. Малер Г., Кордес Ю. Основы биологической химии. –М: Мир, 1970.
9. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. –М: Просвещение, 1987.
10. Практикум по биохимии. Под ред. Мешковой Н.П. –М: МГУ, 1979.
11. Туракулов Ё.Х. Биохимия. –Тошкент: Ўзбекистон, 1994.
12. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Леман И. Основы биохимии. Перевод с английского д.х.н. Л.М.Ликодмана под ред. Овчинников Ю.А. –М: Мир, 1981.
13. Қосимов А.К., Қўчқоров Қ. Қ., Муборақова Д. Х. Биохимиядан амалий машғулотлар. Тошкент: Ўқитувчи, 1989.

14. <http://www.nauka.ru>
15. <http://www.wikipedia.ru>
16. <http://www.bioximii.ru>

QO‘SHIMCHA MATERIALLAR (TEST SAVOLLARI, PREZENTASIYALAR, KEYS-RTADILAR)

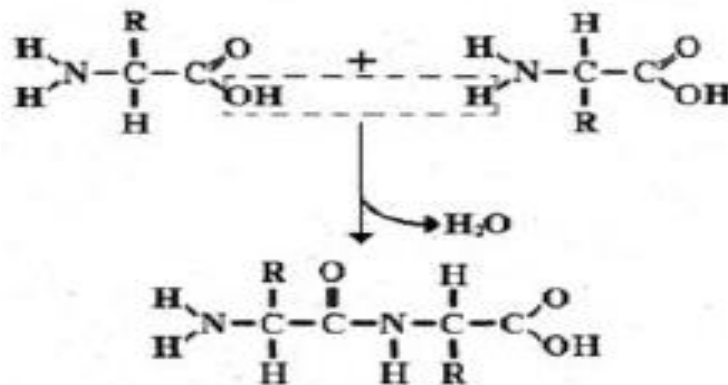
KEYS-STADILAR

1. Tasviri keltirilgan biologik strukturalar tirik sistemani tuzilishini qaysi darajasiga (bosqichiga) to‘g‘ri keladi? Raqamlarni izohlab bering.



2. Keltirilgan chizmani yozib, peptid bog‘ini kvadrat shaklda o‘rab oling. Qanday moddalar o‘zaro munosabatga kirishadi?

- Molekulasi pastda keltirilgan moddani qanday atash mumkin (dipeptid, oligopeptid, polipeptid)?
- Bunday tipdagi reaksiyaga qatnashuvchi dastlabki moddalarni molekulalarini maksimal miqdori qancha bo‘lishi mumkin?

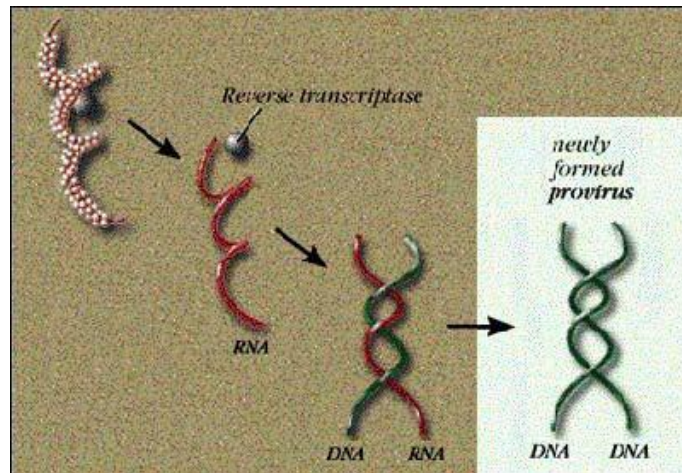


3. DNK va RNK molekularining qiyosiy xarakteristikasi jadvalini to‘ldiring.

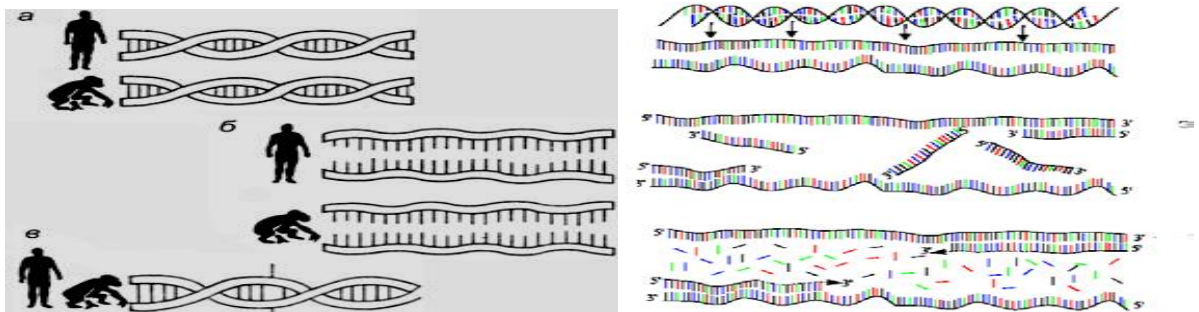
Xususiyatlari	DNK	RNK
Azotli asos		
Karbonsuvlarni (uglevodlarni) tiplari		
Polinukleotid zanjirining miqdori		
Hujayrada joylashishi (lokalizatsiyalanishi)		
Hujayradagi biologik roli		

4. Sizing oldingizda globulyar oqsilning konfiguratsiyasini (uchlamchi strukturasini) qurish vazifasi qo‘yilgan. Konfiguratsiyani laboratoriya metodlari yordamida tadqiq qilish imkoni yo‘q. Laboratoriyada faqat molekulani birlamchi strukturasini o‘rganilgan. Kompyuter model yasash yagona variant hisoblanadi. Oqsilni uchlamchi strukturasini modelini yasash uchun laboratoriyadan qanday xarakteristikalar (birlamchi ma‘lumotlar) so‘rash kerak?

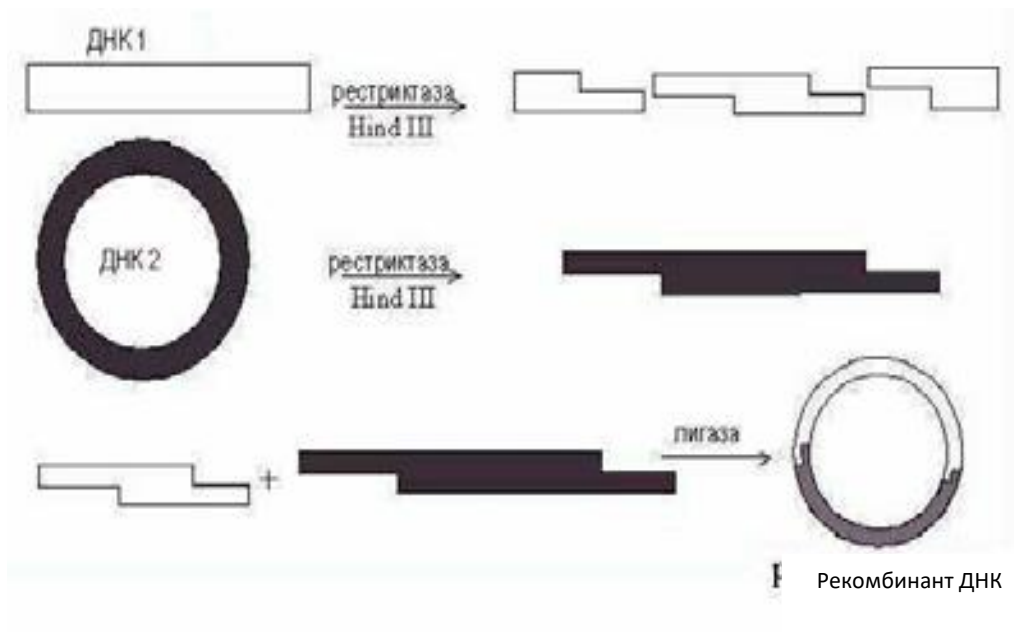
5. Ba‘zi bir viruslar (retroviruslar) irsiy material sifatida DNK emas, RNK molekularini saqlaydilar. DNK molekulasini o‘z-o‘zidan ko‘paya olmaydi. Qanday qilib tabiat retroviruslarni “ko‘payish muammosini” yechgan? Retroviruslarni “ko‘payish muammosini o‘zingizcha yechish variantlarini keltiring (retrovirus qaytma revertaza fermenti saqlaydi). Bu ferment teskari transkripsiya – DNK sintezini kataliz qilinadi, bu reaksiyada matritsa rolini RNK bajaradi (teskari transkripsiya sxemasi quyidagi rasmda keltirilgan).



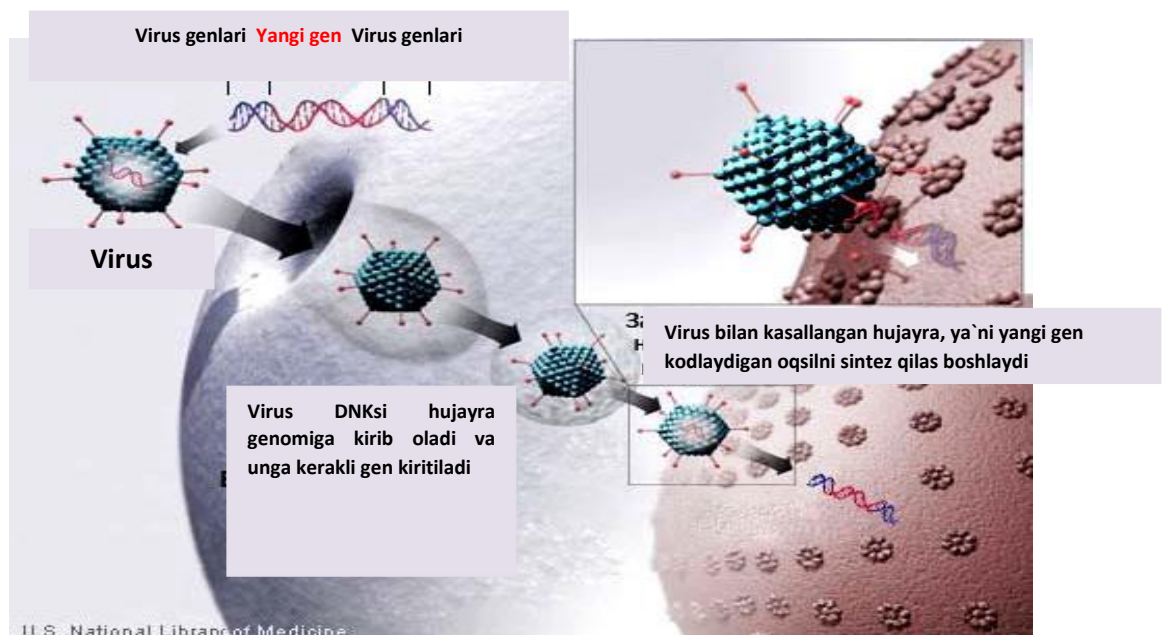
6. Pastda keltirilgan rasmda qanday ikki jarayon sxematik ravishda izohlangan? Har bir jarayonni bosqichlarini yozib chiqing. Har ikki jarayonni bosqichlarini bir-biri bilan taqqoslab chiqing. Har bir jarayonni oxirgi bosqichida hosil bo'ladigan molekular orasidagi prinsipial farqni yoritib bering. Rasmni chap tomonida keltirilgan sxema asosida XX-asrda molekulyar biologiyada qanday yangilik yaratilgan?



7. Quyida keltirilgan sxemani daftaringizga chizib oling. Sxemada keltirilgan gen injeneriyasini bosqichini nomini yozing. Ko'rsatilgan strukturalardan qaysi biri, kelgusida vektor sifatida ishlatiladi? Nima uchun bu struktura vektor bo'lib xizmat qilishini tushintirib bering.



8. Virus, bakteriofag bo‘lishi mumkinligini hisobga olib, rasmda qanday jarayon aks ettirilgan. Rasmda vektorni sxemasini toping va uni daftaringizga chizing. Rasmda ko‘rsatilganidan tashqari, yana qanday uchastok vektor saqlashi mumkin? Uni sxemaga kiritib, daftaringizga chizing va belgilab chiqing.

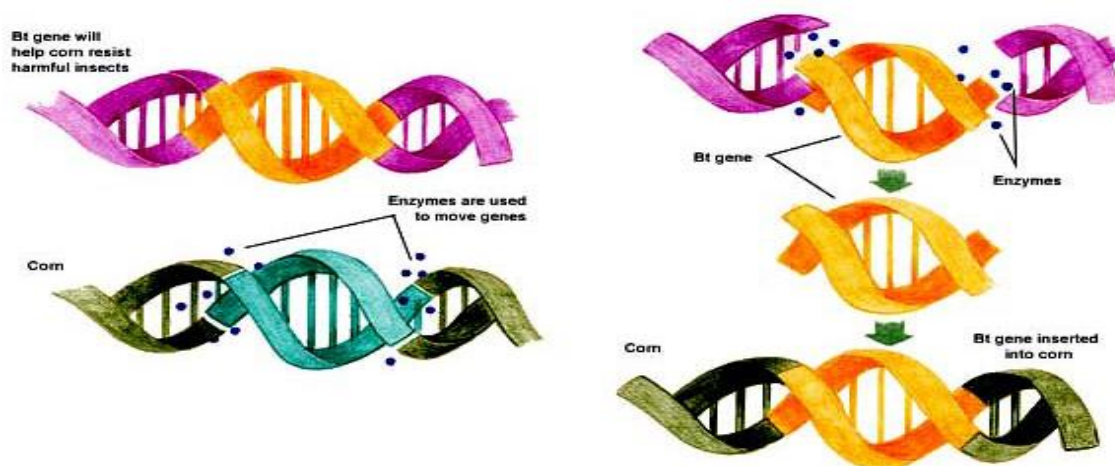


9. Quyida keltirilgan sxemani oxiriga yetkazing. U qanday metodni ko‘rsatadi? Bu metodni qaysi bosqichi bir necha yo‘l bilan bilan amalga oshirilishi mumkin? Sizing fikringizcha bu metodni qaysi bosqichi, eksperimentator uchun qiyinroq tug‘iladi? Agar Siz o‘simlik seleksiyasi ustida tadqiqotlar olib borgan bo‘lsangiz,

muhokama qilayotgan metodni nima maqsadda ishlatgan bo'lar edingiz? Ular orasida yaqinlarini (eng reallarini) va uzoqlashgan (kam real) maqsadlarni ko'rsating. Javobingizni argumentlar bilan tushintiring.

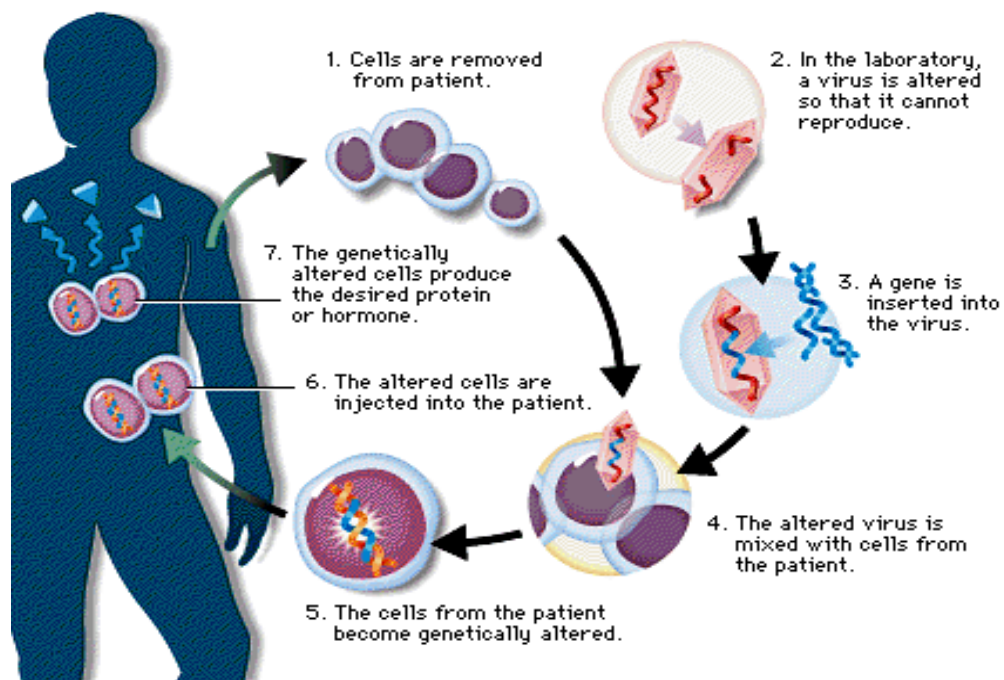
Genni ajratish → vektor tanlash→

10. Rasmda, odamni irsiy kasalligini davolash usuliga asoslangan nanobiotexnologiyani sxemasi keltirilgan (gen injenerlik manipulyasiyasi). Limon va havoranglar bilan belgilangan DNK fragmentlari, genlar hisoblanadilar. Mana shu gen-injener manipulyasiyada asoslangan irsiy kasalliklarni davolash usuli, qanday ataladi? Bu gen-injenerligi manipulyasiyasida qanday fermentlar ishlatiladi? Nima uchun havo rangda keltirilgan gen, DNK dan kesib olingandan keyin, keyingi jarayonlarda ishtirok etmaydi? Nima uchun yangi gen (limon rangda keltirilgan), chiqarib tashlangan gen o'rniga DNK molekulasiga kirib oladi? Rasmda sxema qilib keltirilgan gen-injener manipulyasiyasi istiqbolda qanday ishlatilishi mumkin?

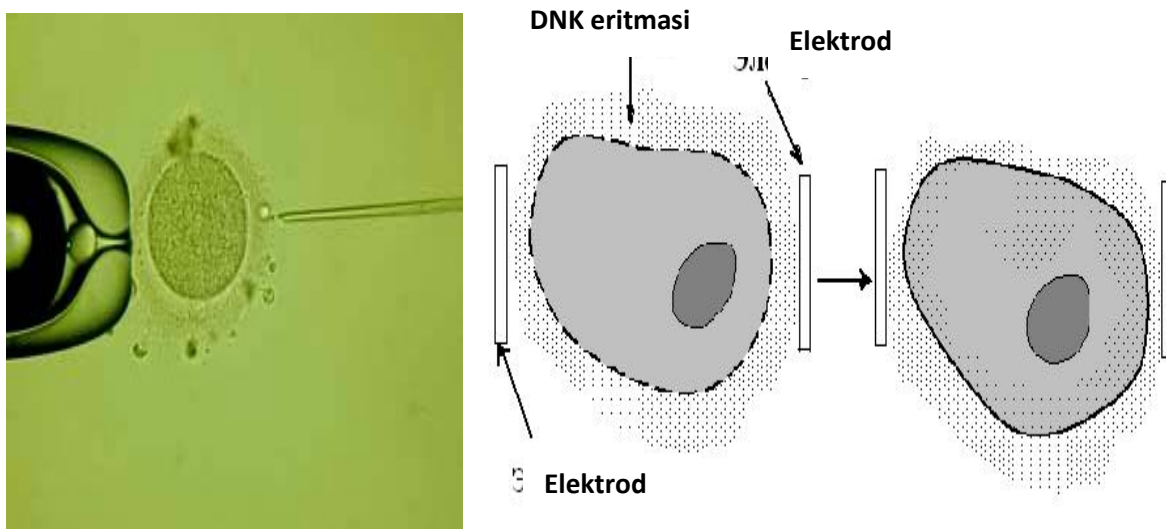


11. O'zingizni viruslarni va odam bakteriyalarini o'rganadigan olim sifatida his qiling? O'z tadqiqotlaringizda gen injeneriya metodlaridan qanday foydalangan bo'lar edingiz? Gen-injeneriyasi metodidan foydalanib, yechishi mumkin bo'lgan vazifalarni shakllantirib chiqing. Javobingizni tushintirib bering.

12. Quyida keltirilgan sxemada odamni irsiy kasalligini davolashni qanday usuli keltirilgan? Sxemada gen injeneriyasi metodi ishlatiladigan bosqichni toping. Shu bosqichni daftaringizga chizib, uni tushintiring.



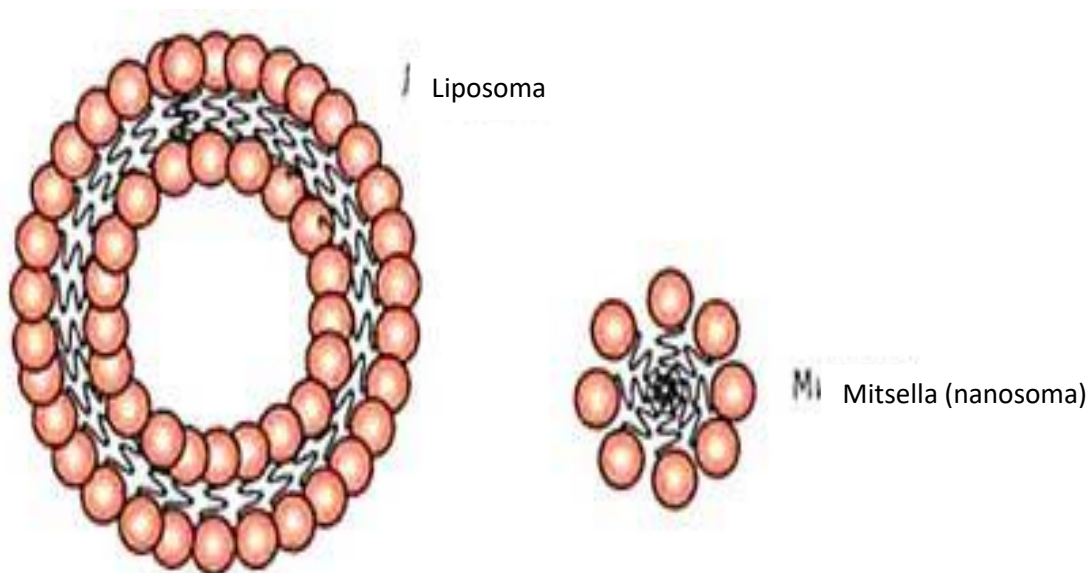
13. Quyida keltirilgan rasmda izohlangan begona DNK ni hujayraga kiritish metodini xarakterlab bering. Begona DNK ni hujayraga kiritishni boshqa yana qanday metodlarini bilasiz? Sizning fikringizcha ulardan qaysi biri ishonchli? Qaysi biri sizni ishonchingizga to‘g‘ri kelmaydi? Javobingizni argumentlab bering.



14. Sizning oldingizga organizmdan tashqarida (laboratoriya sharoitida) rekombinant DNK yaratish vazifasi qo‘yilgan. Tajriba uchun dastlabki material bo‘lib, DNK ni ikki har xil fragmenti xizmat qilishi kerak. Ularni har biri spiralga o‘ralgan ikki polinukleotid zanjirdan tashkil topgan. Mana shu har xil fragmentlarni

yagona nanostrukturaga – rekombinant DNKga birlashtirish uchun nimalarni tayyorlash kerak? Tadqiqot davomida qanday fermentlar va qanday ketma-ketlikda ishlatiladi? Ikki zanjirli DNK ni dastlabki fragmentlarini uzunligini yig'indisiga nisbatan rekombinant DNK molekulasining uzunligi qanday o'zgaradi? Javobingizni tushintirib bering.

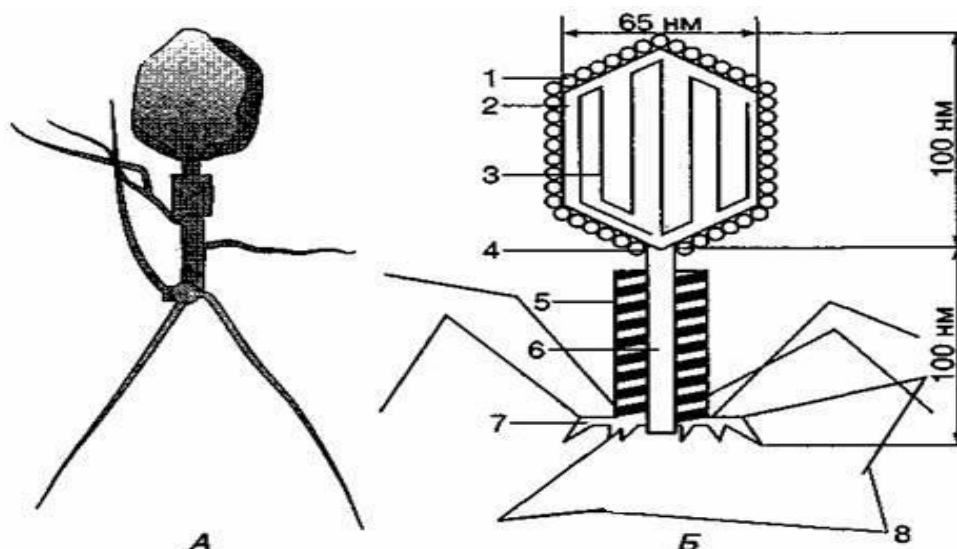
16. Quyida keltirilgan rasmdan foydalanib, liposomalar va nanosomalarni (mitsellalar) qiyosiy xarakteristikasi bo'yicha jadvalni to'ldiring. Lipid molekularini qaysi qismi tashqi muhitga (ichki bo'shliqqa) qaragan? Lipidlarni molekularini mana shunday orientatsiyasi bilan ular shakllangan muhit orasida aloqa bormi? Nanokonstrukturalardan qaysilari (liposomalar yoki mitsellalar) moddalarni hujayraga yo'naltirilgan transport qilishda kengroq ishlatiladi? Javobingizni tushintirib bering.



Strukturani o'ziga xosligi	Liposoma	Nanosoma (mitsella)
Lipid molekularini qavatlar soni		
Lipid molekularini membrana devorida orientatsiyasi		
Ichki bo'shliqni borligi		
Nisbiy kattalik		

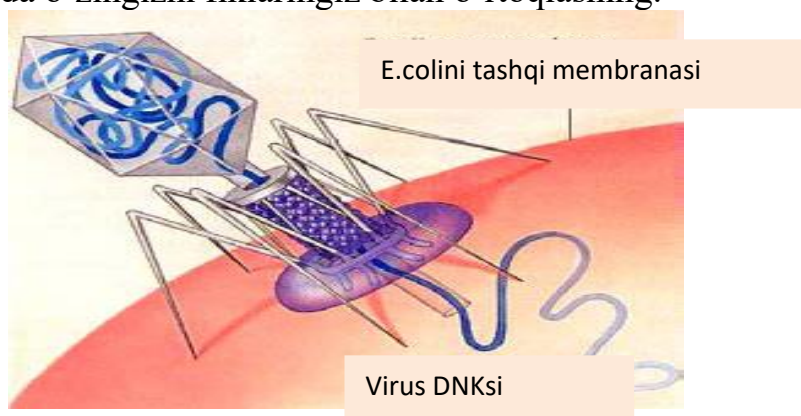
17. Bakteriofagni tuzilish sxemasini chizib chiqing (B-rasm). Uning raqamlar bilan belgilangan strukturalari (qismlari)ni nomlarini yozib chiqing. Viruslar va

bakteriofaglarni tuzilishini taqqoslang va ularni o'xshashlik tomonlarini ko'rsating. Evolyusiya davomida kelib chiqqan farqni qanday tushintira olasiz?

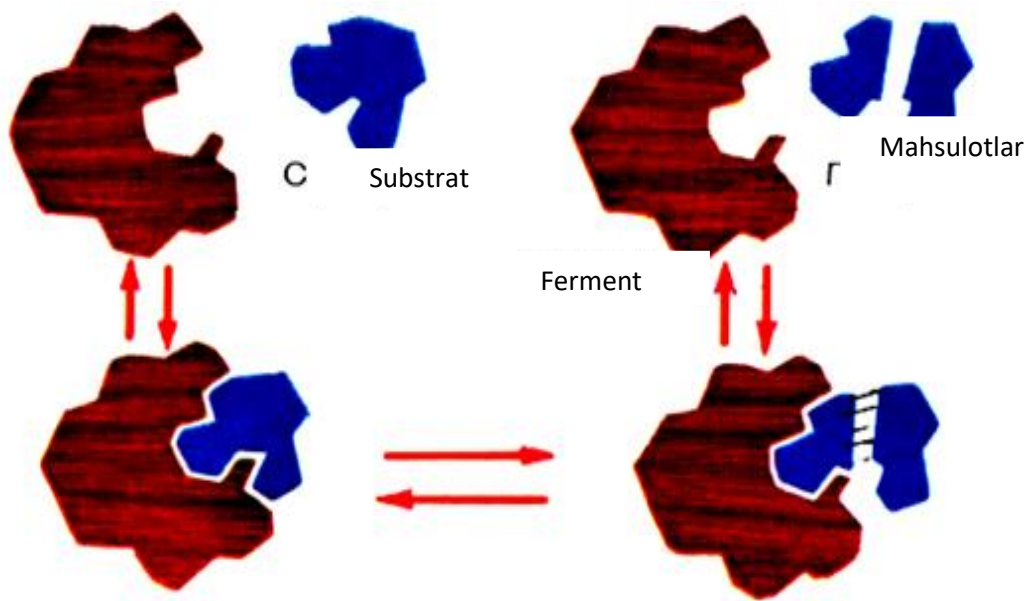


18. Bakteriofaglarni ichak tayoqchasi bilan o'zaro munosabatlari sxemasini ko'rib chiqing. Ushbu bosqichda sodir bo'ladigan o'zaro munosabat jarayonlarini tushintirib bering. Bakteriofagni qaysi qismi, ushbu munosabatlarni oxirida ichak tayoqchasining sitoplazmasida bo'ladi?

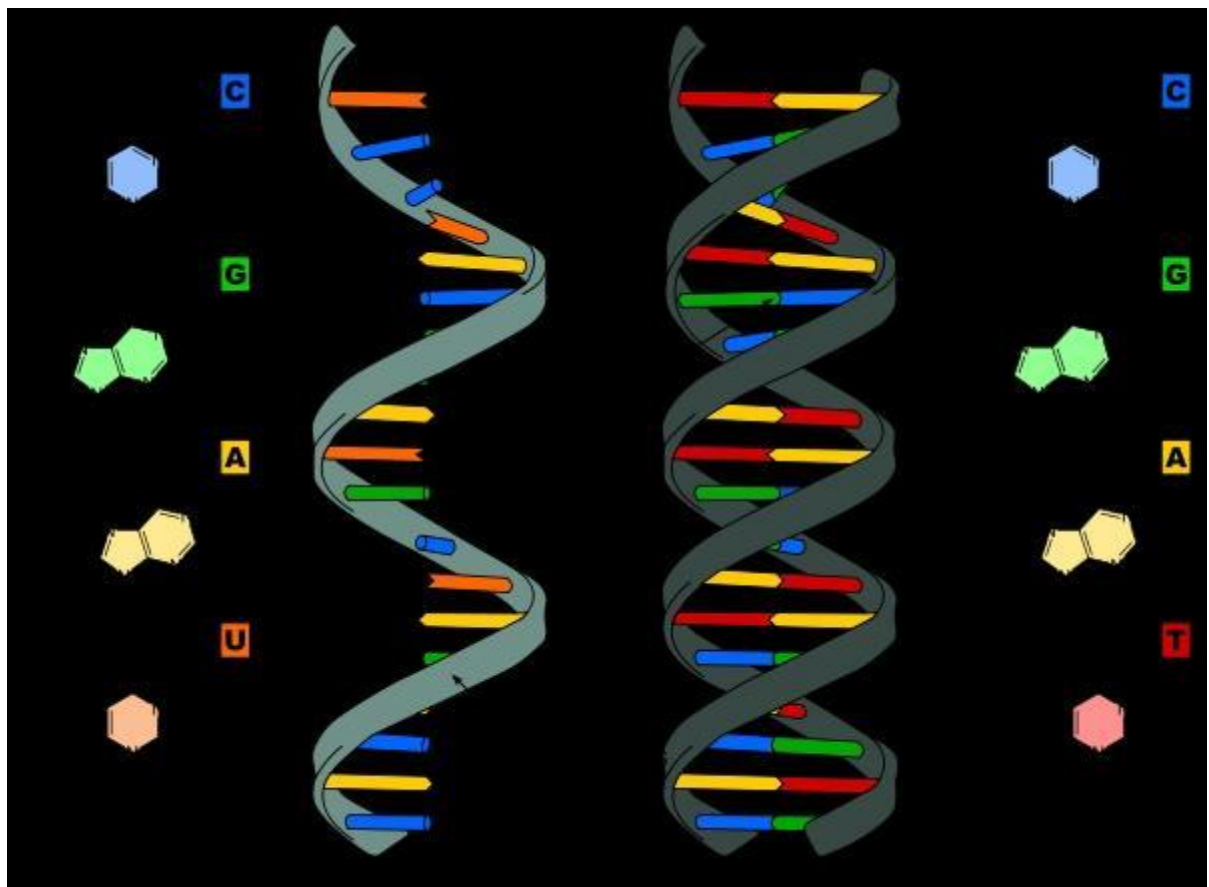
Bakteriofagni boshqa qismi bilan nima bo'ladi? Nimalar asosida bakteriofaglar "birmartalik tirik shipritslarga" o'xshatilgan? Xo'jayin – hujayrani viruslar va bakteriofaglar bilan zararlanish usulini taqqoslang. Bu usullarni samaradorligi haqida o'zingizni fikrlaringiz bilan o'rtoqlashing.

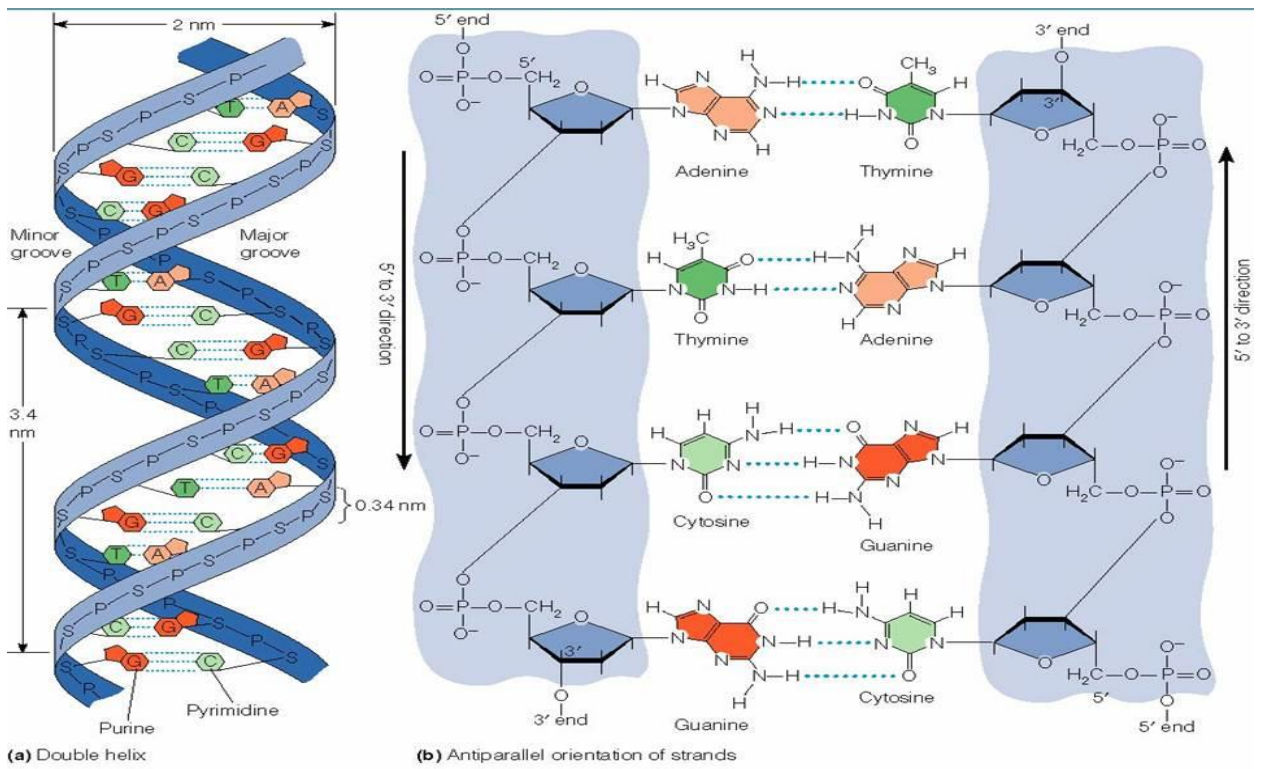


19. Quyida keltirilgan sxemada aks ettirilgan jarayonlarni ma'nosini tushintirib bering. Sxemani daftaringizga ko'chirib oling va unda keltirilgan barcha strukturalarni, jumladan yozilmaganini ham belgilab chiqing.

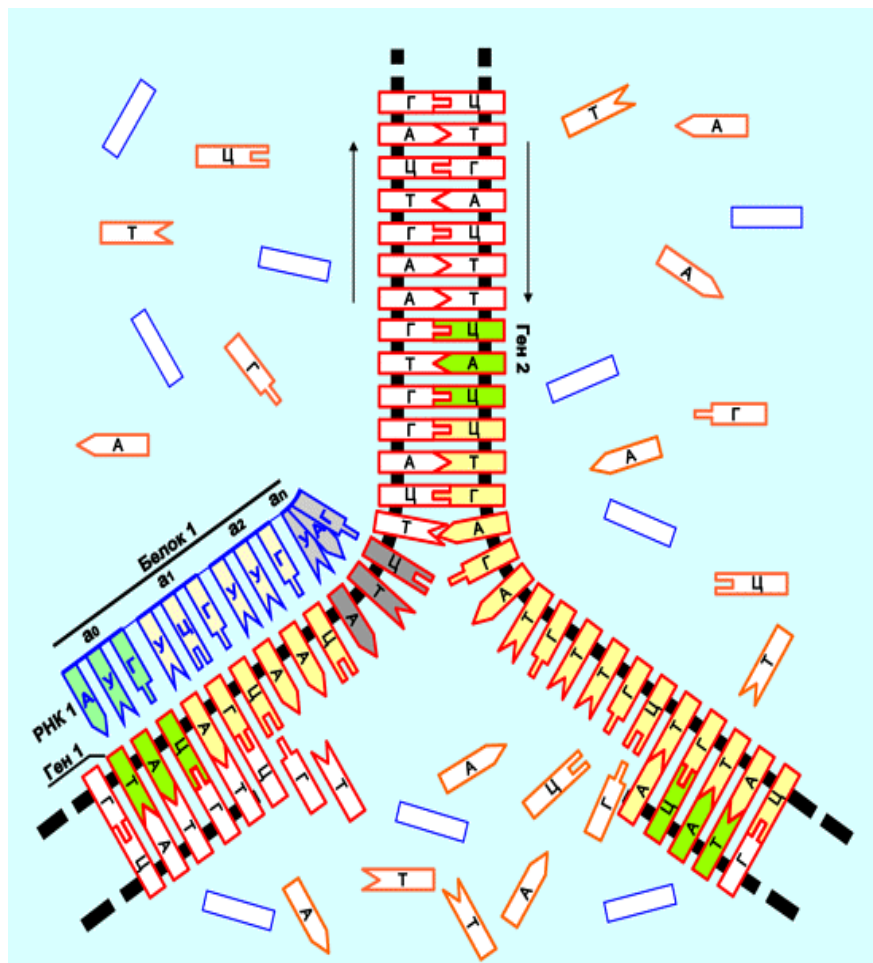


20-21- Rasmlarda DNK va RNK sxemasi keltirilgan. Shundan foydalanib azotli asoslardagi farqlarni izohlang.





Ushbu rasmda nimaning sxemasi tasvirlangan.



BILIMNI TEKSHIRISH VA MUSTAHKAMLASH TESTLARI

Kirish testi

1. Lui Paster bakteriyalarni klonlash orqali qanday jarayonni isbotlab berdi?
A. bakteriyalarning xilma-xilligini;
B. bakteriyalarda irsiyatning mavjudligini;
C. bakteriyalar hususiyatlarining irsiyatga bog`liqligini;
D. barcha javoblar to`g`ri.

2. Laktoza fermenti bo`yicha noaktiv, mutant forma:
A. lac+; B. lac-; C. mut-lac+; D. mut-lac-;

3. Tashqi muhit ta`siri ostida mutatsiyalarning uchrash tezligi:
A. ortadi; B. kamayadi; C. o`zgarmaydi;
D. to`g`ri javob A, B.

4. Organizmning irsiyatini o`zgartirishda qaysi usullardan foydalaniladi?
A. transformatsiya; B. transduksiya. C. kimyoviy. D. to`g`ri javob A, B.

5. Peptonlar tarkibida bo`ladigan moddalarni belgilang.
1. Uglevodlar; 2. polipeptidlar. 3. Organik kislotalar;
4. aminokislotalar. 5. dipeptidlar. 6. spirtlar.
A. 1, 2, 3; B. 2, 4, 5; C. 2, 5, 6; D. barchasi.

6. Ozuqa muhirlari tarkibiga kiradigan uglerod manbalarini belgilang. 1.
Uglevodlar; 2. polipeptidlar. 3. Organik kislotalar;
4. aminokislotalar. 5. dipeptidlar. 6. spirtlar.
A. 1, 2, 3; B. 2, 4, 5; C. 1, 3, 6; D. barchasi.

7. Ozuqa muhirlari tarkibiga kiradigan va hujayrada o`tayotgan biokimyoviy reaksiyalarning katalizatori bo`lib xizmat qiladigan moddalar guruhini belgilang.
A. Peptonlar; B. Uglerod manbai moddalari;
C. Mineral birikmalar. D. barchasi.

8. Bakteriyalar o`zlari sintez qila olmaydigan moddalarni belgilang.
1. Shakar; 2. Vitaminlar; 3. nukleotidlar; 4. glitserin. 5. tuzlar.
A. 1, 2, 5. B. 2, 5; C. 1, 4, 5; D. 3.

9. Murakkab tarkibli ozuqa muhitlaridan qanday sharoitlarda foydalaniladi?
A. tabiatdan ajratib olingan bakteriyalarni o`stirishda;
B. mutant mikroorganizmlarni o`stirishda;
C. ferment sintezlash hususiyatini yo`qotgan mikroorganizmlarni o`stirishda;
D. to`g`ri javob B, C.

10. Ozuqa muhitlarining tarkibi, maqsadi va xossalriga ko`ra guruhlari hamda ularga kiradigan oziqa muhitlar xillarini juftlang.

1. Maqsadi bo`yicha; 2. Tarkibi bo`yicha; 3. Tabiati bo`yicha.

4. Konsistensiyasi bo`yicha.

a-maksimal; b-boyitilgan; c-sintetik; d-qattiq; e-selektiv; f-oddiy; g-yarim suyuq;

A. 1-b; 2-a, e, f; 3-c; 4-d, g.

B. 1-b, e; 2-a, f; 3-c; 4-d, g.

C. 1-b, e; 2-a; 3-c, f; 4-d, g.

D. 1-b; 2-a; 3-c; 4-f.

11. Transformatsiya jarayonini aniqlagan va uni tushuntirib bergan olimlarni belgilang.

A. Griffit, Uotson; B. Griffit, Everi;

C. Everi, Griffit; D. Uotson, Griffit.

12. Transpozonlar ilk bor kim tomonidan kashf qilingan?

A. J. Bishop; B. A.Buxoriy;

C. G.Georgiyev; D. B.M.Klintok.

13. Transpozonning transpozitsiyasini belgilang.

A. Transpozonning dastlabki joyi;

B. Transpozonning ko`chishi;

C. transpozonning yangi joyda joylashishi.

D. transpozonning boshqa joyga kirishi.

14. Replikatsiyalanuvchi plazmidlar:

A. avtonom plazmidlar. B. nasldan-naslga beriluvchi;

C. transmissible; D. to`g`ri javob B, C.

15. Plazmidlar tarkibidagi genlar:

A. antibiotiklar sintez qiladi;

B. zaharli toksinlar sintez qiladi;

C. ferment sintez qiladi;

D. barcha javoblar to`g`ri.

16. Endonukleazalarning qancha turi o`rganilgan?

A. 50; B. 500; C. 4; D. 1000.

17. G`AATTS, STTAA`G ketma-ketlikni kesuvchi restriktazani belgilang.

A. BamH1; B. EcoR1; C. HaeIII; D. barchasi.

18. DNK bo`laklarini katta-kichikligiga qarab ajratish qaysi usuldan foydalanilgan holda olib boriladi?

A. cho`ktirish; B. sentrifugalash; C. sitokimyoviy;

D. elektroforez.

19. Rekombinant DNK olishda DNK bo'laklari qanday bog'lar orqali bog'lanadi?
A. vodorod; B. ion; C. kovalent; D. barchasi.

20. Vektor sifatida qanday manbalardan foydalanish mumkin?
A. Virus DNK si; B. fag DNK si; C. transpozonlar;
D. barchasi.

21. Yot DNK bo'lagini rekombinant vektor konstruksiyalar vositasida ko'paytirish:
A. gen injenerligi; B. genlarni klonlash;
C. hujayra injenerligi; D. barchasi.

22. Genlarni klonlash bosqichlari ketma-ketligini belgilang.

1. Ahamiyatga ega bo'lgan gen qidirib topiladi. 2. Ajratib olingan gen xromosoma DNK si bilan rekombinantsiyalanuvchi biror fag, transpozon yoki plazmid bilan birlashtirilib, vektor konstruksiya yaratiladi. 3. Transgen hujayradan sun'iy sharoitda yetuk organizmlar olinadi. 4. Ahamiyatli gen ajratib olinadi. 5. Vektor konstruksiya hujayraga kiritiladi. 6. Ahamiyatli genning tuzilishi o'rganiladi. 7. Transgen hujayra olinadi.

A. 1, 3, 2, 5, 4, 6, 7; B. 1, 4, 6, 2, 5, 7, 3.
C. 1, 3, 5, 2, 6, 4, 7; D. 1, 7, 4, 6, 2, 5, 3.

23. O'zbekistonda o'simliklar biotexnologiyasida foydalanilgan o'simliklarni belgilang. 1. g'oz; 2. kartoshka. 3. bug'doy. 4. olma.
A. 1; B. 1, 2; C. 1, 2, 3; D. 1, 2, 3, 4.

24. pBR322 va t-DNK dan iborat bo'lgan molekulalar:
A. plazmidlar. B. genlar; C. r-DNK;
D. vektor konstruksiya.

25. Geterologik DNK bo'lagini plazmid tarkibida klonlashda xromosomadan ajralgan DNK bo'lagi nima bilan birlashtiriladi?
A. r-DNK molekulasi bilan. B. Bakteriya geni bilan.
C. antibiotik bilan. D. plazmid hujayra bilan.

26. G'GATSS, SSTSG'G ketma-ketlikni kesuvchi restriktazani belgilang.
A. BamH1; B. EcoR1; C. HaeIII; D. barchasi.

27. O'simliklarning kloni qanday olinadi?
A. transgen hujayrani sun'iy sharoitda o'stirib;
B. o'simliklarni chetdan changlantirib;
C. o'simliklarni qalamchalardan vegetativ ko'paytirib;
D. to'g'ri javob A, C.

28. Tuxum hujayralarning bachadondan sidirib olinib, sun`iy urug`lantirilishi va boshqa organizm bachadoniga kiritilishi:

- A. inyeksiya; B. mikroinyeksiya;
- C. inplantatsiya; D. barcha javoblar to`g`ri.

29. *Growth hormone* bu:

- A. biotexnologik preparat;
- B. tuxum hosil bo`lishini tezlashtiruvchi gormon;
- C. o`shish gormoni;
- D. to`g`ri javob B, C.

30. Yuksak hayvonlar klonlarini yaratish biotexnologiyasi kim tomonidan ishlab chiqilgan?

- A. Roslin; B. J.Gyordon; C. Keler va Milshteyn;
- D. Boyer va Koen.

31. Mikrotomizgich asbobi qaysi biotexnologik usulda qo`llaniladi?

- A. inplantatsiya; B. inyeksiya; C. mikroinyeksiya.
- D. hayvonlarni klonlash.

32. Antitana sintezlovchi limfosit hujyarasi va rak hujyarasini bir-biriga qo`shish natijasida olingan hujayra nima deyiladi?

- A. protoplast; B. Kallus to`qima; C. gibridoma; D. politeniya.

33. Monoklonal antitanalar tarkibida nimalar bo`ladi?

- A. miyeloma va antitanalar aralashmasi;
- B. miyeloma va alohida antitana guruhi;
- C. poliklonal antitanalar.
- D. splenositlar va miyeloma.

34. Monoklonala antitana qanday maqsadda qo`llaniladi?

- A. poliklonal antitanalar olishda;
- B. kasalliklarga tashxis qo`yishda ;
- C. kasalliklarni davolashda;
- D. to`g`ri javob B, C.

35. Gibridomalar olish texnologiyasini qaysi maqsadlarda ishlatish mumkin?

- A. antitanalar ishlab chiqarishda;
- B. gormonlar sintezlashda;
- C. boshqaruvchi moddalar olishda;
- D. barcha javoblar to`g`ri.

36. Biotexnologik usullar yordamida kardiomiopatiya kasalligining irsiylanish qonuniyatlarini o`rganayotgan olimlarni belgilang.

- A. B.Irisboyev, O.Odilova;
- B. B.Irisboyev, G.Hamidullayeva.

C. R. Muhamedov, G.Hamidullayeva.
D. R. Muhamedov, O.Odilova.

37. Go`zaning gullashini boshqaruvchi genini ajratib olgan o`zbek olimi:

A. R. Muhamedov; B. O.Odilova;
C. I.Abdurahmanov; D. B.Irisboyev.

38. Biotexnologik usullar yordamida kasalliklarga tashxis qo`yish va davolash ishlari bilan shug`ullanayotgan o`zbek olimi:

A. R. Muhamedov; B. O.Odilova;
C. I.Abdurahmanov; D. Sh.Azimova.

39. Gen dastiloskopiya usulini amaliyotga tadbiq etgan o`zbek olimlaridan biri:

A. R. Muhamedov; B. O.Odilova;
C. I.Abdurahmanov; D. Sh.Azimova.

40. Tuproqni pestitsidlardan tozalashning biotexnologik usullarini o`rganayotgan o`zbek olimi:

A. R. Muhamedov; B. O.Odilova;
C. I.Abdurahmanov; D. Sh.Azimova.

41. Zamonaviy biotexnologiyaning asosiy usullari:

A. genlarni manipulyatsiyalash; B. klonlash;
C. transformatsiya. D. barchasi.

42. O`simliklarda qancha genlar borligini aniqlangan?

A. 10000 dan ortiq; B. 1000 dan ortiq;
C. 25000 ; D. 100000 ga yaqin.

43. Kasalliklarni hujayralarga funksional genlarni kiritish orqali davolash:

A. genlar manipulyatsiyasi; B. genoterapiya;
C. gen dastiloskopiya; D. barchasi.

44. Yangi organlar yaratish texnologiyasi qanday to`qimalar uchun qulay?

A. teri, tog`ay; B. pay, jigar;
C. teri, nerv; D. tog`ay, yurak.

45. Nerv hujayralarini o`stirishda qanday muhitdan foydalanilgan?

A. sun`iy. B. gormonli; C. A vitaminli;
D. to`g`ri javob A, C.

46. Aminokislotalarning amfoter modda ekanligi nimaga bog`liq?

Molekulasida amin va karboksil guruhlarining bo`lishligiga
Ham kislotalar bilan ham ishqorlarda eriganligi uchun.

Azot saqlovchi moddalar jumlasiga kirganligiga
Oqsillar tarkibida o'zaro bog'langanligiga.

52. Quyida keltirilgan moddalardan qaysi biri α -amino propion kislotasi deyiladi?

- A. $\text{CH}_3\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{-COOH}$
- B. $\text{CH}_3\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{-CH}_2\text{-COOH}$
- C. $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$
- D. $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{-COOH}$

47. Molekulasi tarkibida Fe^{KK} ionini saqlovchi gem moddasi bo'lgan oqsillar nafas olish va modda almashinuvi jarayonlarida faol qatnashadi. Ular quyidagi murakkab oqsillarning qaysi guruhi vakillaridir?

- A. Xromoproteinlar
- B. Lipoproteinlar
- C. Fosfoproteinlar
- D. Glikoproteinlar

48. Quyida keltirilgan oqsillardan qaysi biri xromoproteinlar guruhiga mansub?

- A. Flavoproteinlar
- B. Lipoproteinlar
- C. Nukleoproteinlar
- D. Fosfoproteinlar

49. Fermentlarning eng muhim xususiyatlaridan biri ularning maxsusligidir. Aytinch, yog'larni qaysi ferment gliserin va yog' kislotalarigacha parchalaydi

- A. Lipaza
- B. Saxaraza
- C. Maltaza
- D. Pepsin.

50. Ma'lumki fermentlarni katalitik faolligi temperatura, rN, aktivator va ingibitor kabi fizik-kimyoviy omillarga bog'liq. Aytinch, quyidagi fermentlardan qaysi birining faolligi juda kuchli kislotali (rN-1,5-2,5) muhitda namoyon bo'ladi?

- A. Pepsin
- B. Lipaza
- C. Saxaraza
- D. Maltaza

Bilimni mustahkamlash uchun testlar

1. Bir hujayraning genetik jihatdan bir xil bo'lgan avlodi nima deb ataladi?

- A. Klon B. Mutantlar C. Revertontlar D. Supressorlar

2. Xromosom mutasiyalarni ko'rsating?

- A. Barcha javob to'g'ri
- B. Xromosomalar soning o'zgarishi
- C. Genlarning joylashish tartibi va soning o'zgarishi
- D. Ayrim genlarning o'zgarishi

3. Xromosoma bo'laklarining tushib qolishi nima deb ataladi

- A. Deletsiyalar
- B. Duplikasiyalar
- S. Transpodisiyalar
- D. Inversiyalar

4. Xromasomalar o'rtasida xromasom bo'laklarining o'zaro joyi almashishi nima de-yiladi?

- A. Translokasiyalar
- B. Inversiyalar
- S. Tranpozisiyalar
- D. Amplifikasiyalar

5. Nima missens-mutasiyaga olib keladi?

- A. Transpozisiya va tranvereziyalar
- B. Duplikasiyalar
- S. Duplikasiya va transpazisiya
- D. Transversiyalar

6. Boshlang'ich genetopga teskari mutasiya natijasida yuzaga keladigan mutantlar nima deb ataladi?

- A. Revertantlar
- B. Supressorlar
- S. Leki-mutant
- D. Klonlar

7. Iz qoldirish (otpechatok) metodi biotexnologiyaga kim tomonidan kiritilgan?

- A. D. Lederberg va E. Lederberg
- B. N. N. Dubinin
- S. V. V. Suxodeles
- D. D. J. Uotson

8. Ichak tayoqchasi xromasomasi qanday namoyon bo'ladi?

- A. DNK molekulasining halqasimon shakli
- B. Chiziqsimon DNK molekulasi shaklida
- S. RNK molekulasining halqasimon shaklida

9. “__bu reklikonlar, doimiy ravishda xromasomadan tashqarida irsiylanadi” ushbu iborada nima nazarda tutilgan?

- A. Plazmida
- B. Vektorlar
- S. Kosmida
- D. Bakteriya

10. Bitta xromasomaga nechta yirik plazmida to'g'rikeladi?

- A.1-4
- B.10-200
- S.6-12
- D.100-150

11. Hujayralarning o'zaro muloqoti, natijasida, donor hujayradan resipiyant hujayra genetik informasiyaning berilishi ya'ni genetik almashinuv jarayoni nima deb ataladi?

- A.Konyugasiya
- B.Tanskripsiya
- S.Translyasiya
- D.Replikasiya

12. Bakteriya viruslari nima deb ataladi?

- A.Bakteriofaglar
- B.Boshqa sinf bakteriyalari
- S.Ko'k-yashil suv o'tlari
- D.Plazmidlar

13. Fag zarrachalari nimalardan iborat?

- A.DNK, RNK va oqsildan
- B.Faqat DNK
- S.Faqat RNK
- D.Faqat oqsildan

14. Faglarning hayot sikli qachondan boshlanadi?

- A.Fag zarrachasining hujayraga tegishi bilan
- B.Bakterial hujayra lizisidan so'ng
- S.Fag xromasomasining ko'p karrali replikasiyasi vaqtida
- D.Fag qobig'ining hosil bo'lishi vaqtidan

15. Faglar tomonidan amalga oshiriladigan donor hujayradan, resipiyent hujayraga genetik informasiyaning berilishi quyidagi jarayonlarning qaysi biriga to'g'ri keladi?

- A.Transduksiya
- B.Translyasiya
- S.Terminasiya
- D.Transpodisiya

16. Transduksiyani kim birinchi bo'lib tariflab berdi?

- A.Sender va lederberg
- B.Vatanabe
- S.Sikitya
- D.Suxodolis

17. Transduksiyalovchi zarrachalarning hosil bo'lishining asosiy bosqichi bo'lib nima hisoblanadi?
- A.DNK ning bakteriofaga shaylanishi
 - B.Oqsil biosintezi jarayoni
 - S.Transkripsiya jarayoni
 - D.Translyasiya jarayoni
18. Donor hujayradan ajratilgan DNK ning resipiyent hujayraga tushishi natijasida sodir bo'ladigan genetik axborot almashinuvi jarayoni nima deyiladi?
- A.Transformasiya
 - B.Transpozisiya
 - S.Translyasiya
 - D.Terminasiya
19. Ajratib olingan fag DNK sining bakteriya hujayrasiga o'tishiva u yerda yetilgan fag zarralarining hosil bo'lishiga sharoit yaratib beruvchi jarayoni nima deyiladi?
- A.Transfeksiya
 - B.Transformasiya
 - S.Transpozisiya
 - D.Translyasiya
20. DNK molekulalarining qanday formalari mavjud?
- A.Katyananlar
 - B.Konkatamerlar
 - S.Monomerlar
 - D.Yuqoridagilarning barchasi
21. Gen injenerligida namunaviy tadqiqot necha bosqichdan iborat?
- A.4
 - B.5
 - S.3
 - D.2
22. Gen injenerligida DNK molekulalarining muhim manbai nima hisoblanadi?
- A.Turli xil organizmlarning genetik materiallari bo'laklari
 - B.Genlarning kimyoviy sintezi
 - S.Genlarning ximiko-orermentativ sintezi
 - D.Muhim manbalar yo'q
23. Hozigi vaqtda restriktazalarning necha xili farqlanadi?
- A.3
 - B.8
 - S.5
 - D.10

24. DNK dagi bir xil ketma-ketlikni aniqlovchi fermentlar nima deb ataladi?
A. Izoshizomerlar
B. Megazalar
C. Polimerazalar
D. Hidrolazalar
25. Ushbu ta'rif qaysi javobga to'g'ri keladi?
“__o'z tarkibida bir yoki bir necha restriktazalar tanishi mumkin bo'lgan qisqa sintetik qo'shspiralli oliganukleotidlar”.
A. Izoshizomerlar
B. Linkerlar
S. Gilrolazalar
D. Ligazalar
26. Rekombinant DNK ni xo'jayin hujayrasiga kirishini va uni replikasiyasini ta'minlovchi qismi nima deb ataladi?
A. Vektor
B. Plazmida
C. Kosmida
D. Fazmida
27. Ichak tayoqchasi bakteriyasining necha xil vektorlari mavjud?
A. 4
B. 2
S. 3
D. 1
28. Plazmidalar hujayraga qanday yo'l bilan kiritiladi?
A. Transformasiya
B. Transduksiya
S. Ineksiya
D. Mexanik yo'l bilan
29. Transformasiyada DNK ning nechta molekulasi ishtirok etadi?
A. 10000-1000tadan 1ta
B. 100tadan 2ta
S. 50tadan 5ta
D. 100-1000tadan 3ta
30. Ichak tayoqchasi bakteriyasida joylashgan virus nima deb ataladi?
A. Bakteriofag lyambda
B. Bakteriofal alfa
S. Bakteriofag gamleya

D.Bakteriofag betta

31. Kosmidalarni birinchi bo'lib ta'riflagan olim?

- A.Kolliz va Kon
- B.Lederberg
- S.Konda i Makkey
- D.Simon

32. Klontek genomlar yaratishga va eukariot DNK ning katta bo'laklarini klonlashga moslashgan yirik xajmli vektorlar nima deb ataladi?

- A.Kosmidlar
- B.Fazmidlar
- S.Plazmidlar
- D.Bakterifaglar

33. Fazmidlar nima?

- A.Fag va plazmidlar o'rtasidagi gibridlar
- B.Lyambda fagining yopishqoq uchli DNK li, plazmium
- S.DNK ning katta bo'laklarini klonlashga moslashgan vektorlar
- D.Xromasomadan tashqaridagi genetik elementlar

34. Tarkibida plazmidalar va replikasiyasi va seleksiyasi uchun zarur bo'lgan va fagning litik yetilishiga zarur genlarni saqlovchi ishlab chiqarilgan lyambda bakteriofaglari nima deb ataladi?

- A.Fazmidlar
- B.Kosmidalar
- S.Plazmidlar
- D.M13 fagi

35. Ko'p miqdorda oqsil olish uchun nima qili lozim?

- A.MRNK turg'unligini ta'minlash va oqsil kroteolizini to'xtatish
- B.MRNK turg'unligini kamaytirish
- S.MRNK turg'unligini oshirish
- D.Oqsil proteolizini oshirish

36. Sayt-spesiorik mutagenez texnikasi qanday imkoniyatlar beradi?

- A.Mutasiyalarni genning aniqlangan uchastkasiga olib kiradi
- B.Mutasiyalarni genning biron bir uchastkasiga olib kiradi
- S.Matasiyalardan ximoyalaydi
- D.Genga mutasiyalarning kirishiga yo'l qo'ymaydi

37. "Hayot sikli davomida differensiyarovkaning bir necha bosqichi ma'lum bo'lgan tuproq grammanfii bakteriyalar" quyidagi ta'rif qaysi javobga to'g'ri keladi?

- A.Aksinomisetlar

- B.Basillar
- S.Ildiz bakteriyalar
- D.Achitqilar

38. Ominokislotalarning ishlab chiqarilishida keng foydalaniladigan, katogen bo'lmagan prammanfiy mikroorganizmlar grurrasini ko'rsating

- A.Ildizbakteriyalar
- B.Aksinomisetlar
- S.Achitqilar
- D.Basillalar

39. Xo`jalik faoliyatida odam tomonidan foydalaniluvchi mikroorganizmlar (navvoychilikda, vino va pivo tayyorlashda)

- A.Achitqilar
- B.Basillalar
- S.Aksinomisetlar
- D.Ildiz bakteriyalar

40. Bakteriya hujayrasida begona oqsillar ekspressiyasini optimizasiyalash muammosini ko'rsating.

- A.Yuqoridagilarning hammasi to'g'ri
- B.Proteolizga qarshi kurash
- S.MRNK ning stabilizasiyasi
- D.Ba'zi oqsil hujayralari uchun zaharlanishni oldini olish

41. Biokatolitik tizimlar immobilizasiyasining asosiy metodlarini ko'rsating

1. Adsorbsiya yoki ximiyaviy bog'lanish
2. Polimer tuzilishga qo'shilish
3. Imkapsulasiya
4. Polifunksional agentlar yordamida ko'ndalang tikish
5. Izoelektrik fokuslash

- A.1,2,4,5
- B.1,2,3,5,
- S.1,2,3,4,
- D.Barcha javoblar to'g'ri

42. Immobilizasiya nima?

A.Fermentlar faolligini saqlash uchun uning harakati va tuzilishini chegaralash

- B.Fermentlar faolligini o'zgarishi
- S.Fermentlar sintezi
- D.Fermentlarning katolitik aktivligi va tuzilishining o'zgarishi

43. Immobilizasiyaning adiorbsion usuli nimaga asoslanadi?

- A.Tabiiy va sun'iy tashuvchilar yuzasiga fermentlarni biriktirish
- B.Fermentlarni polimer gellarga bog'lash

S.Fermentlarni membrana kosullariga bog'lash
D.Fermentlarni ko'ndalang tikish

44. Fermentlar immobilizasiyasida nima ro'y beradi?
A.Gomogen holatdan giterogen holatga o'tadi
B.Fermentlar geterogen holatdan gomogen holatga o'tadi
S.Fermentlar strukturasi o'zgaradi
D.Hamma javoblar to'g'ri
45. Fermentlar va riagentlar bo'linishiga nima imkon beradi?
A.Barcha javoblar to'g'ri
B.Reaksiyani kerakli vaqtda to'xtatish
S.Reaksiyadan so'ng fermentlarni qayta tiklash
D.Ferment qo'shilmagan mahsulot olish
46. Hujayra va organlar uchun immobilizasiyaning qaysi usulidan foydalanish maqsadga muvofiq?
A.Polimer qo'shilishga brikirish
B.Ko'ndalang tikish yo'li bilan
S.Adsorbsiya usuli yoki kiyoviy sintez
D.Inkosulasiya usuli
47. Inkosulasiya usuli nimaga asoslanadi?
A.Yarim o'tkazgich qobiq bilan qoplanganligiga
B.Biokatolizatorlarning o'tkazmas qobiq bilan qoplanganligiga
S.Hujayralarning oqsil kopsulasiga qo'shilganligiga
D.Hujayra qobig'ining buzilishiga
48. Hujayralar gel bilan qo'shilganda ularda qanday o'zgarish sodir bo'ladi?
A.Normal o'sadi va ko'payadi
B.O'sishi susayadi yoki to'xtaydi
S.Yomon ko'payadi
D.Maxsulot ajratmay uni ichida to'playdi
49. Biokatalizatorni polimer tuzilishga kiritgach nima hosil bo'ladi?
A.Granulalar, hujayralar, tolalar
B.Granulalar, gel massasi
S.Tolalar va tayoqchasimon hosilalar
D.Tasmalar
50. Fermentlar funksiyalari.
A.Katolitik
B.Yangi brikmalar sintezi
S.Ximiyaviy reaksiyani uzadi
D.Sintetik reaksiyalarga halaqit beradi

51. 17 asrda birinchi marta “hujayra” so’zidan kim foydalangan?
 A.Robert Guk
 B.G. Shvann
 S.A. Levinguk
 D.R. Vixrov
52. Pro-va eukariot hujayralarga xos bo’lmagan, noto’g’ri javobni ko’rsating.
 A.Ribosomalar prokariotlarda bor, eukariotlarda yo’q
 B.Libosomalar prokariotlarda bor, eukariotlarda yo’q
 S.Prokariotlarda hujayra devori bor, eukariotlarda esa yo’q
 D.Pro-va eukariotlarda ham plazmatik membrana bor
53. Fermentativ regulyasiya bu -
 A.Ferment molekulalariga metabolit mahsulotlari ta’sir qila boshlaganda fermentlarning miqdoriga bog’liq bo’lmagan holda ular aktivligining o’zgarishi
 B.Ferment miqdorining kamayishi bilan uning faolligining o’zgarishi
 S.Ferment faolligining o’zgarmasligi
 D.Bioximiyaviy reaksiya tezligining katalizator fermentlar ta’siri natijasida sekin o’zgarishi
54. Konstitutiv fermentlarga misollar ko’rsating.
 A.Glyukozani piruvatga aylantiruvchi glikoliz fermentlari
 B.Piruvatni glyukozaga aylantiruvchi fermentlar
 S.Piruvatni glyukozaga va glyukozani piruvatga aylantiruvchi fermentlar
 D.Hamma javoblar noto’g’ri
55. Fermentlar induksiyasi bu -
 A.Ximiyaviy brikma - induktorning paydo bo’lishiga javob sifatida ferment sintezining nisbiy o’zgarishi
 B.Fermentlar sintezi tezligining oshishi
 S.Fermentlar sintezi tezligining kamayishi
 D.Ferment faolligining regulyasiyasi
56. Fermentlar sintezining sustlashuvi yoki to’xtab qolishi nima deb ataladi?
 A.Fermentlarning koordinirlangan repressiyasi
 B.Fermentlarning koordininrlaydigan induksiyasi
 S.Fermentativ regulyasiya
 D.Hamma javob noto’g’ri
57. Repressiya yordamida nimalar sintezi boshqariladi?
 A.Hamma javob noto’g’ri
 B.Amminokislotalar
 S.Vitaminlar va boshqa birlamchi metolitlar
 D.Purin va merimidinlar

58. Metabolizm tezligi qanday aniqlanadi?
 A. Energiya taqchilligi bilan
 B. Muhitdagi u yoki bu substratlar konsentrasiyasi bilan
 S. Hujayraning energiyaga bo'lgan ehtiyoji bilan
 D. Barcha javoblar to'g'ri
59. ATF sintezining yagona yo'lini ko'rsating.
 A. Subsproporap fosforlanish
 B. Fosforlanish yoki elektronlar tashilishi
 S. Uchkarbon kislota sikli oraliq maxsulotlarining oksidlanishi
 D. Barcha javoblar to'g'ri
60. Hujayra ichki proteoliz stimulyasiyasi qachon kuzatiladi?
 A. Barcha javoblar to'g'ri
 B. Aminokislotalar taqchilligida
 S. Azot manbasi taqchilligida
 D. Energiya va uglevod taqchilligida
61. Agar hujayrani yuqorimolekulyar birikmalar, masalan: kraxmal ammonit va mineral tuzlar bo'lgan muhitga joylashtirsak u:
 A. Barcha javoblar to'g'ri
 B. Avval kraxmalni glyukozagacha gidrolizlaydi
 S. Glyukozani hujayra ichiga yetkazib beradi
 D. Glyukozani ikki va uch-uglevodlibirikmalarga ajratadi va bu kichik molekulalarni uch karbon kislota sikliga kiritadi
62. Yangi o'simlik navlari yaratish uchun yo'nalishlar mavjud?
 A. Barcha javoblar to'g'ri
 B. Gibridizasiya asosidagi seleksiya
 S. Tabiiy va sun'iy reaksiyalar
 D. Gen muhandisligi
63. Tuganak bakteriyalar qaysi avlodga mansub?
 A. Rhizobium
 B. Agrobacterium
 S. Azotobacter
 D. Klebsiella
64. Qaysi birikmalar o'simlik xo'jayin va tuganak azotafiksatorlar o'rtasida simbioz munosabatini o'rnatuvchi genlarga ega?
 A. Sym
 B. Pak
 S. Cfx
 D. Osm

65. Nam yetishmovchiligi, issiqqa, sovuqqa va yer sho'rligiga qarshi o'simlik chidamliligini genlar qanday birikmalarga oid?
A.Osm
B.Sym
S.Pak
D.Cfx
66. O'simliklarda SO₂ ning funksiyasini muvofiqlashtiruvchi genlar qanday birikmalarga oid?
A.Cfx
B.Sym
S.Pak
D.Osm
67. Qaysi fototrof mikroorganizmlar oqsil manbai bo'la oladi?
A.Barcha javoblar to'g'ri
B.Spirulina
S.Chlorella
D.Schnedesmus
68. CO₂ va H₂O yonishida olinadigan ekologik yoqilg'i.
A.Etanol
B.Gazoxol
S.Gidrogenaza
D.Biogaz
69. Benzinning 10-20% ni nima tashkil qiladi?
A.Gazoxol
B.Etanol
S.Gidrogenaza
D.Biogaz
70. Tarkibida Fe S - sitrlar bo'lgan ferment.
A.Gidrogenaza
B.Etanol
S.Gazoxol
D.Biogaz
71. Yomon sifatli o'smalar va ma'lum mikroorganizm guruhlariga nisbatan fiziologik faollikka ega bo'lgan hayotiy faoliyat mahsuloti.
A.Antibiotiklar
B.Garmonlar
S.Interferanlar
D.Interleykinlar

72. Yuqumli viruslarning ta'siriga javoan inson va hayvon hujayralari nima ajratadi?
- A.Interleykinlar
 - B.Antibiotiklar
 - S.Garmonlar
 - D.Interferonlar
73. Immun javobini tashkil qilishda qatnashadigan kalta polipeptidlar?
- A.Interleykinlar
 - B.Interfironlar
 - S.Antibiotklar
 - D.Garmonlar
74. Rekombinat vaksinalar qanday olinadi?
- A.Sigir o'lati viruslaridan foydalaniladi
 - B.Kasallik qo'zg'atuvchi genlar klonlashtiriladi
 - S.V - gibridon hujayralari maxsulotlari
 - D.To'g'ri javob yo'q
75. Vaksina antigenlar qanday olinadi?
- A. Kasallik qo'zg'atuvchi genlar klonlashtiriladi
 - B.Sigir o'lati viruslaridan foydalaniladi
 - S.V - gibridon hujayralari maxsulotlari
 - D.To'g'ri javob yo'q
76. Manoklonal antitelalar nima?
- A.V - gibridon hujayralari maxsulotlari
 - B.Kasallik qo'zg'atuvchi genlar klonlashtiriladi
 - S.Sigir o'lati viruslaridan foydalaniladi
 - D.To'g'ri javob yo'q
77. Oziq biomassasida oqsil, nuklin kislotalar va lipidlar qancha miqdorda bo'lishi kerak?
- A.80%, 2%, 1%
 - B.90%, 1%, 0,5%
 - S.60%, 10%, 5%
 - D.10%, 55, 3%
78. Bakteriyalardan qaysi biri S yordamida oksidlab Fe, Cu, Zn va boshqa metallarni ishqorlaydi?
- A.Thiobacillus ferrooxydans
 - B.Chrombacterium violaceum
 - S.Zoolgoca ramigera
 - D.Xantomonas campestris

79. Qaysi bir bakteriya oltinni eritadi?
A. Chrombacterium violaceum
B. Zoolgoca ramigera
S. Xantomonas campestris
D. Thiobacillus ferrooxydans
80. Qaysi bir bakteriya oqava suvlardan H, Cu, Cd ni ajratib oladi?
A. Zoolgoca ramigera
B. Xantomonas campestris
S. Thiobacillus ferrooxydans
D. Chrombacterium violaceum
81. Qaysi bakteriyaning hujayradan tashqari polisoharidi neftni ajratib olishda foydalaniladi?
A. Xantomonas campestris
B. Thiobacillus ferrooxydans
S. Chrombacterium violaceum
D. Zoolgoca ramigera
82. O'stirish uchun eng zarur moddalarni ko'rsating.
A. NH_3 , H_2S , CO_2 , N_2 , O_2
B. H_2SO_2 , Kcl, H_2CO_3 , Mg SO_4
S. Na Cl
D. Barcha javob to'g'ri
83. Iqtisodiy nuqtai nazardan, foydalanish maqsadga muvofiq bo'lgan xom ashyoni ko'rsating.
A. To'g'ri javob yo'q
B. Qimmatli xom ashyo
S. Arzon xom ashyo
D. Toza xolatda olingan birikmalar aralashmasi
84. Avtotrof organizmlar, hujayraning organik birikmalarini quyidagilarning qaysi biridan sintez qiladi?
A. CO_2 va H_2O
B. NH_2 va H_2O
S. H_2S va CO_2
85. Arzon va mo'l xom ashyoni ko'rsating.
A. Ksiloz
B. Laktoza
S. Melassa
86. Uglarod va energiyaning keng tarqalgan manbalari bo'lib hisoblanuvchi komponentlar.

- A.Neft
- B. $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$
- S.Mochevina
- D. NH_3

87. Ligninni aniqlashning keng tarqalgan metodida qaysi modda bilan ishlov beriladi?

- A. SO_2
- B. CO_2
- S. NH_3

88. Gemisellyo`lozalarning asosiy komponenti

- A.Saharoza
- B.Laktoza
- S.Ksillon
- D.Kraxmal

89. Qaysi fermentlar guruxi atomlar gruppasini bir birikmadan ikkinchi birikmaga tashishni amalga oshiradi?

- A.Transferaza
- B.Izomerazalar
- S.Gidromazalar
- D.Oksidoredruktazalar

90. Ligaza, amilaza, peptidaza fermentlari qaysi fermentlar sinfiga mansub?

- A.Gidronazalar
- B.Liazalar
- S.Ligazalar
- D.Troneferazalar

91. Sanoatning qaysi sohalarida amilazalardan foydalaniladi?

- A.Tekstil, non pishirish, pivo ishlab chiqarish
- B.Oziq-ovqat, teri, go'sht sanoatida
- C.Farmaseftikada, fotografiyada
- D.Oziq-ovqat, tekstil, rezina

92. Bakterial proteazalardan foydalanish

- A.Kir yuvish vositalari, oqsil gidrolizatlarini olish (ozuqa ishlab chiqarishda) terini yumshatishda
- B.Glyukozani ajratishda, sharbatlarni yorqinlashtirishda
- C.Ko'pik miqdorini muvozanatlashtirishda tish pastasiga qo'shiladi
- D.Bolalar ozuqasini ishdab chiqarishda

93. Fermentlarni chiziq bo'ylab joylashishi qanday imkoniyatlarni beradi?

- A.O'zini boshqarish imkonini beradi
- B.Turli xil tugallangan maxsulotlarga olib keladi
- S.Ingibirlashning teskari aloqa bo'yicha o'zini boshqarish

- D.Hamma javoblar to'g'ri
94. Kofaktorlar funksiyasi.
- A.Fermentlar faolligini to'xtatadi
 - B.Fermentlar sintezi uchun zarur
 - S.Katolitik aktiv ishlarni amalga oshirish uchun zarur
 - D.Hamma javob noto'g'ri
95. Temperatura oshirilganda fermentativ revksiya tezligi qanday o'zgaradi?
- A.Ma'lum chegaragacha to'g'ri proporsional o'zgaradi
 - B.O'zgarmaydi
 - S.To'g'ri proporsional
 - D.Teskari proporsional

TARQATMA MATERIALLAR

8.1. REFERAT MAVZULARI

t/r	Mavzulari nomi
1	Kirish. Enzimologiyaning qisqacha rivojlanish ta`rixi. Fermentlarning tuzilishi, xossalari.
2	Fermentlarning o`rganish uslublari.
3	Kataliz, fermentativ reaksiyalar kinetikasi.
4	Fermentlar faolligining boshqarilishi. Fermentlarning to`qima va xujayralar lokalizatsiyasi.
5	Fermentlarning tasniflanishi va nomenklaturasi.
6	Oksiredutazalar, transferazalar, gidrolazalar va liazalar.
7	Izomerazalar va ligazalar.
	Fermentlarning ahamiyati. Amaliy enzimologiya.
8	Fermentlarning oziq-ovqat sanoati va qishloq xo`jaligidagi ahamiyati.
9	Enzimologik muxandislik va undan foydalanish istiqbollari.
10	Geksokinaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
11	Glyukozafosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
12	Glyukozafosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
13	Aldolaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
14	Triozofosfatizomeraza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash
15	D-glitseraldegid-3-fosfatdehidrogenaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
16	Fosfoglitserokinaza fermentini ajratib olish, tozalash va faolligini aniqlash.
17	Fermentlarni preparativ ajratib olish, tozalash va xossalari o`rganish.
18	Fermentativ reaksiyalar kinetikasi.
19	Fermentlarni xossalari o`rganish.
20	Kofermentlar, tuzilishi va katalitik ta`sir mexanizmlari.
21	Nukleotid-kofermentlar, tuzilishi va katalitik ta`sir mexanizmlari
22	Fermentlar biosintezi.
23	Fermentlar biosintezini boshqarilishi
24	Fermentlar aktivligini boshqarilishi

8.2. ADABIYOTLAR RO`YXATI

Asosiy adabiyotlar:

1. Диксон и Уэб. Ферменты. М. 1985. 3-х томник.
2. Кретович В.Л. Введение в энзимологию. М. 1989.
3. Ленинджер. Основы биохимии. М. 1985. 1 т.
4. Тўрақулов Ё.Х. Биохимия. Т. 1996.

Qo`shimcha adabiyotlar

1. Уайт т др. Основы биохимии. М.1991.
2. Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия. М. 2000.
3. Валихонов М.Н.. Биокимё. Тошкент. Университет, 2009.
4. Филипович Ю. Основы биохимии. М., ФЛИНТА, 1999.
5. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. Москва. «Высшая школа» 2000.
6. Березов Т. Биологическая химия. М. 2000.
7. Северин Е.С. Биохимия. М., ГЕОТАР-МЕД, 2004.
8. Игамназаров Р.П., Абдуллаева М.М., Умарова Г.Б.. Биокимёвий тадқиқот услублари. Тошкент. 2003й.
9. Олий таълим жараёнида замонавий педагогик технология асосида ўқув фаолиятини ташкил этиш услуб ва воситалари. Тошкент Давлат Техника университети. Тошкент. 2007 йил.

Интернет ресурслари

10. www.ziyonet.uz
11. www.maik.ru
12. www.pedagog.uz

GLOSSARIY

Aminokislotalar	- tarkibida amino va karboksil guruhlari mavjud bo`lgan organik birikmalar.
Antigen	- hujayraga kirganda antitana hosil qiluvchi, organizm uchun yot bo`lgan molekulalar.
Antitana	- ishlab chiqariladigan immunoglobulin tabiatli murakkab oqsil molekulasi.
Azotobakterin	- tuproq azotobakteriyalarining hayotiy faoliyati asosida yaratilgan bakterial o`git turi.
Bakteriofaglar	- bakteriyalarda parazitlik qiladigan va ularni lizis qiluvchi viruslar.
Basitratsin	- basilixinlar deb nomlanuvchi preparat, yem-ozuqa tarkibiga qo`shib ishlatiladigan antibiotik modda.
Biotexnologiya	- biologik makromolekulalar va organizmlardan foydalanib, xilma-xil mahsulotlar ishlab chiqarish texnologiyasini o`rganuvchi fan.
Boverin	- zamburug`larning hayotiy faoliyati asosida olinadigan entomapatogen preparat turi.
Elektroforez	- elektr maydoniga joylashtirilgan maxsus gel ichida molekulalarni o`rta qismidan kattaligiga ko`ra bir-biridan ajratish uslubi.
Endonukleaza	- DNK zanjirlarini kesuvchi fermentlar (restriktazalar).
Entobakterin	- bakteriyalarning hayotiy faoliyati asosida olinadigan entomapatogen preparat turi.
Fag	- bakteriofag so`zining qisqartmasi.
Fermentlar	- organizmda boradigan hayotiy jarayonlarni katalizlaydigan oqsil tabiatli yuqori molekulyar organik birikmalar.
Fermentyor	- laboratoriyada yoki sanoat miqyosida mikroorganizmlar yoki yuksak organizmlar hujayralarini o`stirish uchun xizmat qiladigan maxsus asbob.
Fitobakteriomitsin	- zamburug`larning hayotiy faoliyati asosida olinadigan, streptotritsin guruhiga mansub bo`lgan antibiotik modda.

Fosfobakterin	- bakteriyalarning hayotiy faoliyati asosida olinadigan bakterial o`g`it turi.
Gen	- polipeptid zanjiri sinteziga javobgar bo`lgan DNK bo`lagi.
Genetik injeneriya	- gen yoki genlar yig`indisining maqsadga muvofiq o`zgartirilishi asosida mahsulotlar ishlab chiqarish.
Genlarni klonlash	- ko`zlangan DNK bo`lagini vektorlar vositasida ko`paytirish.
Gibridoma	- limfosit yoki har qanday normal hujayra bilan rak hujayrasining qo`shilishi natijasida hosil qilingan, tez bo`linuvchi duragay hujayralar to`plami.
Gigromitsin	- zamburug`larning hayotiy faoliyati asosida ishlab chiqariladigan antibiotik modda.
Grizin	- zamburug`lar asosida olinadigan streptotritsinlar guruhiga kiruvchi antibiotik.
Immunitet	- organizmning virus va mikroblardan iborat bo`lgan infeksiyon manbalar, shuningdek noinfeksiyon tabiatli qator organik moddalarga nisbatan chidamliligi.
Immobilizatsiyalangan hujayralar	– biron bir organik asos (gel, membrana, tolalar) ga birikkan hujayralar.
Immobilizatsiyalangan fermentlar	– molekulasi u yoki bu yo`sinda ma`lum bir asosga birikish orqali hosil qilingan ferment preparati.
Interferonlar	- umurtqali hayvonlar hujayralari tomonidan sintezlanadigan virusli infeksiyaga qarshi ishlab chiqariladigan va hujayralarning virusga qarshiligini keltirib chiqaradigan oqsillar.
Kallus to`qima	- hujayraning bo`linishidan hosil bo`lgan, deyarli ixtisoslashmagan hujayralar to`plami.
Klon	- bitta hujayradan hosil bo`lgan irsiy jihatdan o`xshash hujayralar to`plami.
Kodon	- DNK yoki RNK ning ma`lum aminokislota, translyatsiyaning boshlanishi yoki nihoyasini kodlaydigan uchta nukleotiddan iborat qismi.
Konyugatsiya	- bakteriyalardagi jinsiy ko`payish jarayoni, bunda DNK donor hujayradan retsiptiyent hujayraga ko`chiriladi.

Mikrobiologiya	- mikroskopik kattalikka ega bo`lgan organizmlarni o`rganuvchi fan.
Mikrobiologik transformatsiya	- mikroorganizmlarning hayotiy faoliyati natijasida dastlabki mahsulotning qisman o`zgarishi.
Molekulyar genetika	- organizmlar irsiyatining molekulyar asoslarini o`rganuvchi genetikaning bir bo`limi.
Monoklonal antitana	- bir tur antitana hujayralarining o`sma hujayralariga duragaylash orqali olingan gomogen antitana oqsil molekulalari.
Nitragin	- <i>Rhizobium</i> avlodiga mansub bo`lgan tugunak bakteriyalarining hayotiy faoliyati asosida tayyorlanadigan bakterial o`git turi.
Nitrogenaza	- atmosfera azotini o`zlashtirishini katalizlashda ishtirok etuvchi ferment.
Plazmid	- xromosomadan tashqarida joylashgan o`z-o`zini replikatsiya qila oladigan halqali DNK molekulasi.
Poliklonal antitana	- organizmga tushgan yot moddaga qarshi ishlab chiqariladigan geterogen antitana oqsil molekulalari.
Produsent hujayra	- oziqa muhitida qimmatli mahsulotlarni hosil qilishga qodir bo`lgan hujayralar jamlanmasi.
Restriktaza	- DNK molekulasini maxsus nukleotidlar izchilligiga ko`ra bo`laklarga bo`luvchi fermentlar.
Sayt	- DNK molekulasidagi yagona bo`lak. Ketayotgan jarayonga muvofiq bu nuqta restriksiya sayti, rekombinatsiya yoki transpozitsiya saytlari deb nomlanishi mumkin.
Tetrasiklin	- zamburug`larning hayotiy faoliyati asosida ishlab chiqariladigan antibiotik modda.
Transgen o`simlik	- yot genni hujayraga kiritib, undan sun`iy sharoitda olingan yangi hususiyatga ega bo`lgan o`simlik.
Transpozonlar	- harakatchan, genomda o`zini qirqib, genomning boshqa joyiga ko`chib o`tadigan genetik tuzilmalar.
Trixotetsin	- mog`or zamburug`ining hayotiy faoliyati asosida olinadigan, tarkibida kislrod tutuvchi antibiotik modda.

- Vektor** - biror ahamiyatga ega bo`lgan DNK bo`lagi kiritilgan plasmid, virus yoki ko`chib yuruvchi genetik elementlarning DNK molekulasi.
- Virus** - begona DNK ga kirish va avtonom replikatsiyani amalga oshirish orqali hujayraga genetik axborotni kiritish vositasi bo`lib xizmat qiladigan DNK molekulasi.
- Vitaminlar** - organizmlar hayot kechirishi uchun zarur bo`lgan har xil tuzilishga ega bo`lgan past molekularli moddalar guruhi.