



НҲАТДАН ЛЕКТИН МОДДАСИНИ АЖРАТИБ ОЛИШ ВА УНИНГ БАЪЗИ ХУСУСИЯТЛАРИНИ ЎРГАНИШ

Турсунова Солиха Зафар қизи

Тошкент Фармацевтика институти

магистратура талабаси

solikhazamonova@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.6035140>

MAQOLA TARIXI

Qabul qilindi: 15-dekabr 2021

Ma'qullandi: 15-yanvar 2022

Chop etildi: 5-fevral 2022

KALIT SO'ZLAR

гликобиология,
гликопротеинлар, лектин
, PBS (Phosphate-Buffered
Saline), Аммоний сульфат,
Рингер эритмаси,
гемагглютинация
реакцияси, трипсин
ферменти, эритроцит
суспензияси.

ANNOTATSIYA

Лектин бугунги кунда гликобиология соҳасида тез суратлар билан ривожланмоқда. Бунга сабаб, лектин иммунологик хусусиятга эга бўлмаган бироқ ўзига хос углеводлар билан боғлана олиш хусусиятига эга бўлган моддалар мураккаб оқсиллар синфига мансуб бўлиб, ушбу моддага турли ўсимликлар, жумладан дукакли ўсимликлар жуда бойдир. Ўсимликлар таркибидаги гликопротеидларнинг ўзига хос бўлган бундай хусусияти унинг турли соҳаларда жумладан тиббиётда, диагностикада, биотиббиётда ва шу билан бирга биотехнология соҳаларида қўллаш имконини яратди. Ўсимликлардан ажратиб олинган гликопротеидлар бугунги кунда бир қатор олимлар томонидан ўрганилган ва ўрганилмоқда. Сабаби, ўсимликлардаги гликопротеидлар яъни лектин деб номланувчи моддалар юқори спецификликка эга бўлиб, қандли моддалар қолдиқларига боғланади ва шу билан бирга хужайра усти углеводлари ва оқсиллари ва вирус гликопротеидлари ва гликолипидлари билан боғлана олади.

Лектинларнинг яна бир ўзига хос хусусиятларидан бири қондаги эритроцитлар билан боғланиш хусусиятидир ва шу билан бирга улар гемагглютинация реакциясини амалга оширади. Лектинларнинг ушбу функцияси уларнинг фаоллигини аниқлаш имконини беради.

Шу сабабли, турли манбалардан олинган лектинлар юқумли касалликлар диагностикасида, қон гуруҳини аниқлашда, қондаги баъзи бир кераксиз қолдиқларни чиқариб ташлашда кенг қўлланилмоқда

Ишнинг долзарблиги

Сўнгги ўн йилликда гликобиология соҳасига бўлган эътибор кучайиб ушбу соҳада бир қатор илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Бунга асосий сабаб бугунги кунда ўсимлик гликопротеинларининг ноёб хусусиятга эга эканлигидир. Гликопротеинлар кимёвий модификацияга олиб келмасдан маълум карбонгидрат тузилмаларини юқори даражада ўзига хос тарзда таний оладиган ва қайта тиклаши мумкин бўлган оқсилларнинг махсус гуруҳидир. [1] Бу ноёб биологик хусусият турли тиббий ва биологик муаммоларни ҳал қилишда, ферментлар ва бошқа оқсиллардан



гликопротеинларни хусусан ўсимлик лектинларини фарқлашда қўлланилади. Гликопротеинлар-лектинлар умумий хусусияти ега бўлмаган иммун келиб чиқиши оқсилларнинг бир гуруҳ еканлигини таъкидлаш лозим. Лектинлар бактериал ҳужайралар ва вирусли оқсил юзаси билан боғланиш учун махсус ретсепторларга эга бўлган юқори молекуляр моддалар ҳисобланади. Бундан ташқари, баъзи лектинлар антивирал препаратлар сифатида ишлатилади ва антибактериал таъсирга ега ҳамда ўсимта ҳужайра линиялари пролеферациясини кўпроқ бостиради. Енг аниқ ситотоксик таъсири саратон ўсимта ҳужайралари нисбатан намоён бўлади. Бундан ташқари лектин моддасидан қон гуруҳлари белгилашда, турли касалликларни ташхис қўйиш ва даволашда фойдаланиш мумкин. Шу билан бирга лектиннинг цитотоксик фаоллиги юқори бўлганлиги сабабли,

саратон касалликларини даволашда ишлатилади ва онкомаркер сифатида қўлланилади. [2]

Тадқиқотнинг мақсади:

Нўхатдан лектин моддасини ажратиб олиш ва унинг баъзи хусусиятларини ўрганиш.

Тадқиқотнинг объекти: Нўхат ва ундан ажратиб олинган лектин моддаси.

Амалий қисми:

Нўхатдан лектинни ажратиш учун 250 грамм миқдорида нўхат тарозида ўлчаб олинди ҳамда сараланади ва аввал механик тарзда ҳовончада, сўнг гомогенизаторда майдаланди ҳамда сокслет аппарати ёрдамида ёғсизлантирилди. [3] Олинган намуна қуритилиб, 100 г миқдорида ўлчаб олинди ва 400 мл PBS(Phosphate-Buffered Saline) да 1 сутка давомида 4° С да совитгичда экстракция қилинди. [4]

| Туз | Концентрация (mmol/L) | Концентрация (g/L) |
|---|-----------------------|--------------------|
| NaCl | 137 | 8.0 |
| KCl | 2.7 | 0.2 |
| Na₂HPO₄ | 10 | 1.42 |
| KH₂PO₄ | 1.8 | 0.24 |

1-жадвал PBS(Phosphate-Buffered Saline)

Бир суткадан сўнг экстракт 7000 айланма/минут тезликда 20 минут давомида қайта центрифугаланиб, супернатант ажратиб олинди. Олинган супернатант дастлаб 30 % ли аммоний сульфат ёрдамида 1 сутка давомида 4° С да совитгичда чўктирилди. Сўнгра, 7000 айланма/минут тезликда 20 минут давомида центрифуга қилиниб, чўкма ажратиб олинди ҳамда супернатант қисми 90 % ли аммоний сульфат

ёрдамида 1 сутка давомида 4° С да совитгичда чўктирилди. Сўнгра 7000 айланма/минут тезликда 20 минут давомида центрифуга қилиниб, чўкма ажратиб олинди. Центрифугадан сўнг ажратиб олинган чўкма 2 сутка давомида дистилланган сувда диализ қоплари ёрдамида тузсизлантирилди. Олинган намуналар суюқ азот ёрдамида музлатилиб, лиофил қуритгичда қуритиб олинди. [8,9]





Қуришиб олинган намунамизнинг биологик фаоллигини аниқлаш учун сифат тақлили гемаглютинация реакцияси амалга оширилди. Бунинг учун дастлаб 2мл эритроцит суспензияси олинади ва уни суултириш учун 5мл рингер эритмасидан солинади.[5]Бу ўринда шуни қайт этиш лозимки лектиннинг биологик фаоллигини аниқлашда

эритроцитни қандай манбадан олиш муҳим рол ўйнайди. Тадқиқотимиз учун биз инсон,сичқон ва каламуш қони эритроцитларидан фойдаландик.Эритроцит суспензиясини тайёрлаш учун дастлаб 2мл қон (инсон,каламуш,сичқон) олинади ва уни суултириш учун 5мл рингер эритмасидан солинади.

2-жадвал Рингер эритмасини тайёрлаш.

| Рингер эритмаси | MW | mM/1l | mM/2 00ml | g/1litr | g/500 ml | | MW | M | g/1l | g/200 ml |
|--------------------------------------|-------|-------|-----------|---------|----------|------------|-------|---|------|----------|
| NaCl | 58,4 | 135 | 27 | 7.884 | 3.942 | | | | | |
| KCl | 74.5 | 5 | 1 | 0.3725 | 0.1863 | | | | | |
| MgCl ₂ *6H ₂ O | 203.3 | 1 | 0.2 | 0.2033 | 0.1017 | Таёрлаш 1М | 203.3 | 1 | 203 | 40.66 |
| CaCl ₂ *6H ₂ O | 219 | 2 | 0.4 | 0.438 | 0.219 | Таёрлаш 1М | 219 | 1 | 219 | 43.8 |
| HEPES 1 | 238.3 | 10 | 2 | 2.3831 | 1,1916 | | | | | |
| Глюкоза | 180,2 | 5 | 1 | 0,901 | 0,4505 | | | | | |
| pH7.4 довести NaOH | | | | | | | | | | |

Қонни плазмаси, шакли элементларидан ажратиш учун 10 минут 3000 айланишда центрифугага қўямиз, бу жараёни 3 марта қайтарамиз ҳар бир босқичдан сўнг пробиркадаги плазмани олиб ташлаймиз ва қайтадан рингер еритмаси билан суултирамиз. Сўнгра 10мкл қонга 990мкл рингер еритмасидан солиб қонни суултириб оламиз мақсад эритроцитларни алоҳида-алоҳида ҳолда кўриш. Суутириб олинган қондан 1мкл буюм ойначасига соламиз ва микроскопда кузатамиз сўнг буюм ойначасидаги қоннинг устига 1мкл текшираётган моддамиздан томиздик ва микраскопда

кузатдик сўнг унинг устига трипсин ферментимиздан томизамиз ва микроскопда жараёни кетишини кузатамиз ва натижаларини қуйидаги жадвалларга жойлаштирамиз. Бунда лектин эритроцит хужайраси мембрана қаватида жойлашган рецепторларга специфик мумкин эканлиги адабиётлардан маълум.Ушбу мақсадда биз турли хил эритроцит суспензияларидан фойдаландик.Тадқиқотимиздан шу нарса маълум бўлдики эритроцитларга трипсин билан ишлов берилгандан сўнг лектиннинг эритроцитларда юқори гемаглютинация даражаси маълум бўлди.Бу ўринда шуни қайд этиш





лозимки, адабиётлардан маълумки эритроцитлар мембранасида сиалопротеидлар мавжуд бўлиб, ушбу моддалар гликопротеидларни эритроцит мембранаси билан ўзаро боғлаб гемаглютинация жараёнини амалга оширишда халақит беради. Шу сабабли биз тадқиқотимизда инсон қони эритроцитларига трипсин ферменти билан ишлов берилди ушбу

жараёнда трипсин ферменти эритроцит мембранасидаги сианопротеидларни гидролизлаб хужайра мембранасини лектин билан ўзаро таъсирланишига имкон яратади. Бунинг натижасида гемаглютинация даражаси юқори даражада бўлганлигини қуйида келтирилган жадвалларда кузатишимиз мумкин.[6,7]

3-жадвал 90%ли тузда чўктирилган лектин фаоллигини текшириш.

| N | Лектин миқдори мл | Гемаглютинатцияга кетган вақт мин | Гемаглютинатция даражаси | Трипсин миқдори мг | Гемаглютинатция даражаси |
|---|-------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|
| 1 | 1,0 | 15 | паст | 1,0 | ўртача |
| 2 | 1.5 | 15 | паст | 1.5 | ўртача |
| 3 | 2,0 | 15 | ўртача | 2,0 | юқори |

4-жадвал 90%ли тузда чўктирилган лектин фаоллигини текширишда трипсиннинг миқдорини ўзгаришига асосланган жадвал.

| N | Трипсин миқдори мг | Лектин миқдори мг | Гемаглютинатсия даражаси |
|---|--------------------|-------------------|--------------------------|
| 1 | 1 | 1 | Паст |
| 2 | 2 | 1 | ўртача |
| 3 | 3 | 1 | ўртача |
| 4 | 4 | 1 | Юқори |
| 5 | 5 | 1 | Юқори |

4-жадвал 90%ли тузда чўктирилган лектин фаоллигини текширишда лекиннинг миқдорини ўзгаришига асосланган жадвал

| N | Трипсин миқдори мг | Лектин миқдори мг | Гемаглютинатсия даражаси |
|---|--------------------|-------------------|--------------------------|
| 1 | 10 | 1 | Паст |
| 2 | 10 | 1.5 | Паст |
| 3 | 10 | 2 | ўртача |
| 4 | 10 | 2.5 | ўртача |
| 5 | 10 | 3 | ўртача |

5-жадвал 90%ли тузда чўктирилган лектин фаоллигини текширишда лекиннинг миқдори ҳамда вақтнинг ўзгаришига асосланган жадвал

| N | Трипсин миқдори мг | Лектин миқдори мг | Вақт дақиқа | Гемаглютинатсия даражаси |
|---|--------------------|-------------------|-------------|--------------------------|
| 1 | 2 | 2 | 10 | паст |



| | | | | |
|---|---|-----|----|--------|
| 2 | 2 | 2.5 | 15 | паст |
| 3 | 2 | 3 | 20 | ўртача |
| 4 | 2 | 3.5 | 30 | юқори |

Foydalanilgan adabiyotlar:

1. В.В.Игнатов Углеводсвязывающие белки — лектины. Соросовский образовательный журнал 1997, № 2, С. 14–15
2. М.В.Лахтин, В.М.Лахтин, С.С.Афанасьев, Л.В.Пожалостина, Н.А.Кахановская, В.Ф.Карсун Лечебный и пробиотический потенциал лектинсодержащих фитопрепаратов. Практическая фитотерапия. Москва, 2009. 5-12С.
3. Методы контроля. Химические факторы. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Руководство Р 4.1.1672-03. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.
4. Rekha Marndi Isolation and Characterization of Concanavalin A from the seeds of *Canavalia ensiformis*. A Thesis submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the degree of Master of Science In Life Science Submitted To National institute of technology, rourkela. India 2012. P. 1-44.
5. Галиханова Ульяна Александровна “Молекулярно-Биохимические Механизмы Действия Дитерпеновых Гликозидов На Рост И Устойчивость Растений” Федеральное Государственное Автономное Образовательное Учреждение Высшего Образования «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет» Уфа 2020
6. Сытников, Д.М. Лектиновая активность различных органов сои в условиях эффективного и неэффективного симбиоза / Д. М. Сытников, С.Я. Коць, С. М. Маличенко // Физиология и биохимия культ. растений. – 2006.– Т. 38. – С. 53–60.
7. Сытников, Д.М. Лектиновая активность различных органов сои в условиях эффективного и неэффективного симбиоза / Д. М. Сытников, С.Я. Коць, С. М. Маличенко // Физиология и биохимия культ. растений. – 2006.– Т. 38. – С. 53–60.
8. Сытников, Д.М. Участие лектинов в физиологических процессах растений / Д.М. Сытников, С.Я. Коць // Физиология и биохимия культурных растений. – 2009. – Т. 41. – С. 279-296.
9. Тимофеева, О.А. Активность и состав лектинов клеточной стенки пшеницы при действии низких температур и ингибиторов кальциевой сигнальной системы / О.А. Тимофеева, Ю.Ю. Невмержицкая, М.А.