



## SORBENT TECHNOLOGY FOR ENZYME TRYPSIN

**Sevara Raupovna Khadzhimetova**

Is a senior lecturer at the Tashkent Pharmaceutical Institute,

Department of Biotechnology

Sevaraxadjimetova8@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.10911104>

### ARTICLE INFO

Received: 25<sup>th</sup> March 2024

Accepted: 30<sup>th</sup> March 2024

Online: 31<sup>th</sup> March 2024

### KEYWORDS

Enzyme, trypsin, Microexpress, proteolytic, biospecific chromatography, chymotrypsin, catalyst.

### ABSTRACT

*Among the unique properties of enzymes, their high specificity is more precisely the fact that each enzyme breaks down specific substances with an effect limited to a certain substance or a very small amount. The specific effect of enzymes is a biological property, which cannot be the orderly exchange of living substances, and therefore life itself.*

## TRIPISIN FERMENTI UCHUN SORBENT OLISH TEXNOLOGIYASI

**Xadjimetova Sevara Raupovna**

Toshkent farmatsevtika instituti, Biotexnologiya kafedrasida katta o'qituvchisi

Sevaraxadjimetova8@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.10911104>

### ARTICLE INFO

Received: 25<sup>th</sup> March 2024

Accepted: 30<sup>th</sup> March 2024

Online: 31<sup>th</sup> March 2024

### KEYWORDS

Ferment, tripsin, Mikroekspress, proteolitik, biospetsifik xromotografiya, ximototripsin, katalizator.

### ABSTRACT

*Fermentlarning o'ziga xos xususiyatlaridan ularning yuqori spetsifikligi aniqrog'i har bir fermentning biror bir modda bilan chegaralangan ta'sirli yoki juda oz miqdordagi ularga xos moddalarni parchalashidir. Fermentlarning spetsifik ta'siri bu biologik xususiyati bo'lib, bu siz tirik moddalarni tartibli almashinishi va shundan kelib chiqib hayotning o'zi ham bo'lishi mumkin emas.*

**KIRISH.** Mamlakatimizda biotexnologiyani o'rganish va uning yutuqlaridan ilmiy – tadqiqot ishlarida hamda amaliyotda foydalanish masalalari o'tgan asrning 70-80-yillarda shakllana boshlagan edi. Bugungi kunga kelib farmatsevtik biotexnologiya yo'nalishida ham ko'plab ilmiy izlanishlar va amaliy tadqiqotlar bir qator olimlar, mutaxassislar tomonidan izchil davom ettirilmoqda.

I.P.Pavlov yozishicha "hayot fermentlarsiz bo'lmaydi. Organizmdagi barcha kimyoviy jarayonlarni boshqargan moddalardir. Fermentlar yordamida organizmda kimyoviy o'zgarishlar yuz beradi"



Hozirgi kunda turli xil ta'sirga ega bo'lgan ferment preparatlari ishlab chiqarilmoqda. Masalan, proteolitik ta'sirli fermentlar tripsin, ximototripsin, amilolitik ta'sirga ega (amilaza, oraza), maxsus fibrikoletik preparatlar ( fibrinolezin, strektoliaza), ribonuklin kislotalarni dikolilirazatsiya qiluvchi ferment preparatlari ( ribonukleaza, dezoksiribaza ) va qator boshqa ferment preparatlari tibbiyotda qo'llanilib kelinmoqda.

Bu preparatlar turli xil kasalliklarda keng ishlatiladi. Misol uchun yiringli kasalliklarda tramboz, ovqat xazm bo'lish jarayonida o'zgarish bo'lganda va boshqa kasalliklarda samarali tasirga egadir. Ferment preparatlari alkologik kasalliklarni davolashda ham o'z o'rnini topmoqda. Masalan, asparanginaza fermentidir.

**ADABIYOTLAR TAHLILI VA METODOLOGIYASI.** Fermentlarni tayyorlash sanoati yuqori texnologiyali sanoatdir. Bu past dozalash, yuqori katalitik samaradorligi va kuchli o'ziga xosligi bilan ajralib turadi. Bu boshqa turdosh sohalarga xizmat ko'rsatadigan sanoatdir. Uning qo'llanilish sohalari engil sanoat, oziq-ovqat, kimyo, farmatsevtika, qishloq xo'jaligi va energetika, atrof-muhitni muhofaza qilish va boshqa jihatlarni qamrab oladi. Tripsin olish sxemasi boshqa oshqozon osti bezi preparatlarini olishdan farq qilmaydi. Avval oshqozon osti bezi -12°C da 48 soat muzlatiladi. Bunda bezlardagi kimyoviy jarayonlar deyarli to'xtaydi va ta'sir qiluvchi moddalar parchalanishidan saqlanadi. Muzlatilgan oshqozon osti bezidan 150gr tortib olib maydalagichda yaxshilab maydalanadi. Dietil efir va atsetonda 150gr qo'shib yog'sizlantiriladi. Bu usulda organlar saqlanishidan tashqari, yog' yog'simon moddalardan ham tozalanadi. Byuxner varonkasida filtrlanadi va efir qismidan ajratib olinib ekstraksiya qilinadi. Ekstraksiya qilganimizda suyuq va quyuuq qismga ajraladi. Quyuuq qismi tashlab yuboriladi, suyuq qismini 0,15 M Na Cl dan 1 litr qo'shib 16 soat ekstraksiya qilinadi. PC- 6 markali sentrafugada sentrafuga qilinadi. Bunda pH=4 bo'lishi kerak. HCl kislotasi bilan pH=4 ga yetkaziladi. Buni esa Bogner voronkasida filtrlab olamiz so'ng dialezi qilinadi. Dializ ba'zan ajratmalarni tozalashda foydalanadi. Dializda biopolimerlar molekulasini o'lchovi katta bo'lganligi sababli, yarim o'tkazuvchan parda orqali o'tolmaydi, shu bilan birga biofaol moddalar ular orqali oson o'tadi. asosan dializ uchun sellofan, kollodit va nitrotsellyulozalardan tayyorlangan pardalar ishlatiladi. Odatda dializ jarayoni juda sekin boradi. Dializ 20 litr suvga nisbatan 24 soat 4°C da turadi. So'ng 8000 ayl/ minutda 30 minut sentrifugalanadi. Cho'kma tashlab yuboriladi. Suyuuq qismi olinib byuxner varonkasida filtrlanadi. Hosil bo'lgan filtratga sorbent tripsin qo'shiladi va yaxshilab aralashtirib 30 minut sentrifuga qilingandan so'ng cho'kma qismi ajratib olinadi. Olingan cho'kma desorbsiya qilinadi. Tripsin ingibitorini desorbsiya qilish uchun faqat ingibitor kompleksini hosil qiluvchi bog'larni uzish kerak. Buning uchun 20m mol HCl kislotasi qo'shiladi. Shunga tripsin ingibitori erkin holda, eritmaga o'tadi oxirgi bosqich quritiladi. Tibbiyotda qo'llaniladigan sof holdagi preparat olina

**MUHOKAMA.** Tripsin olish sxemasi boshqa oshqozon osti bezi preparatlarini olishdan farq qilmaydi. Avval oshqozon osti bezi -12°C da 48 soat muzlatiladi. Bunda bezlardagi kimyoviy jarayonlar deyarli to'xtaydi va ta'sir qiluvchi moddalar parchalanishidan saqlanadi. Muzlatilgan oshqozon osti bezidan 150gr tortib olib maydalagichda yaxshilab maydalanadi. Dietil efir va atsetonda 150gr qo'shib yog'sizlantiriladi. Bu usulda organlar saqlanishidan tashqari, yog' yog'simon moddalardan ham tozalanadi. Byuxner varonkasida filtrlanadi va efir qismidan ajratib olinib ekstraksiya qilinadi. Ekstraksiya qilganimizda suyuq va quyuuq qismga



ajraladi. Quyuq qismi tashlab yuboriladi, suyuq qismini 0,15 M NaCl dan 1 litr qo'shib 16 soat ekstraksiya qilinadi. PC- 6 markali sentrafugada sentrafuga qilinadi. Bunda pH=4 bo'lishi kerak. HCl kislotasi bilan pH=4 ga yetkaziladi. Buni esa Bogner voronkasida filtrlab olamiz so'ng dialezi qilinadi. Dializ ba'zan ajratmalarni tozalashda foydalanadi. Dializda biopolimerlar molekulasini o'lchovi katta bo'lganligi sababli, yarim o'tkazuvchan parda orqali o'tolmaydi, shu bilan birga biofaol moddalar ular orqali oson o'tadi. asosan dializ uchun sellofan, kollodit va nitrotsellyulozalardan tayyorlangan pardalar ishlatiladi. Odatda dializ jarayoni juda sekin boradi. Dializ 20 litr suvga nisbatan 24 soat 4°C da turadi. So'ng 8000 ayl/ minutda 30 minut sentrifugalanadi. Cho'kma tashlab yuboriladi. Suyuq qismi olinib byuxner varonkasida filtrlanadi. Hosil bo'lgan filtratga sorbent tripsin qo'shiladi va yaxshilab aralashtirib 30 minut sentrifuga qilingandan so'ng cho'kma qismi ajratib olinadi. Olingan cho'kma desorbsiya qilinadi. Tripsin ingibitorini desorbsiya qilish uchun faqat ingibitor kompleksini hosil qiluvchi bog'larni uzish kerak. Buning uchun 20m mol HCl kislotasi qo'shiladi. Shunga tripsin ingibitori erkin holda, eritmaga o'tadi oxirgi bosqich quritiladi. Tibbiyotda qo'llaniladigan sof holdagi preparat olinadi.

Mikroekspress usuli bo'yicha tripsinning faolligini aniqlash.

Kerakli asbob va reaktivlar.

1. 0,2 H NaOH
2. 0,1 H HCl
3. 10% li trixloruksus kislotasi
4.  $N_2 HPO_4$
5.  $NaH_2PO_4$
6. fosfor buferi pH=8
7. albumin
8. FEK -H-57
9. Termostat
10. Pipetka

Reaksiya 37°C da termostatda olib boriladi. Olingan eritma ustiga albumindan 1ml olib ustiga pH=8 bo'lgan fosfor buferidan 1ml qo'shib termostatga 37°C da 30 minut qoldiriladi. Ko'rsatilgan vaqt o'tgandan so'ng eritmani olib ustiga 0,1 ml trixlor uksus kislotasidan solinadi va FEK-H-57 asbob orqali optik zichligi o'lchanadi va faolligi aniqlanadi.

**XULOSA:** Ushbu maqolada tripsin fermentini biospetsifik xromotografiya usuli bilan olishning texnologiyasini ishlab chiqdik.

Turg'unlashtirilgan fermentlarning bir necha o'ziga xos avzalliklari ham bor.

1. Katalizator sifatida ishlatilayotganda kerak vaqtda reaksiyani to'xtatib, uning qolganini ajratib olish va yana ishlatish mumkin.
2. Ularning ishlatilishi jarayonlarini uzluksiz davom etishi imkoniyatini yaratadi
3. Katalizatorning maqsadga muvofiq ishlatishi imkoniyatini beradi.

Shuning bilan bir qatorda tripsin ingibitori tabiatda keng tarqalgan bo'lib, hayvon, o'simlik ham ashyolaridan va mikroorganizmlar tomonidan sintez qilib olinadi. Tripsin trombolitlar, paradontozining yallig'lanishi – distrofik xillari, gaymorit, otit, irit, iridotsiklit, ko'z oldingi kamerasiga qon quyilishi, nafas yo'llarining yallig'lanishi kabi kasalliklarda



(bronxitlar) qo'llaniladi. Bizning maqsadimiz hayvon a'zolaridan olingan tripsinni tibbiyotda joriy etib uning hom ashyo bazasini boyitishdir.

Shu bilan bir qatorda:

- 1) oshqozon bezidagi tripsin fermentini olish texnologiyasini yangi biospetsifik xromotografiya usulini ishlatish bilan boyitiladi.
- 2) Bu texnologiyani qo'llaganda texnologik jarayonlarni miqdori qisqardi. Endi u to'rt qismdan iborat:
  - a) oshqozon osti bezidan ekstrakt olish
  - b) sorbsiya sharoitlari optimallashtirish
  - v) desorbsiya sharoitlarini optimallashtirish
  - g) tripsin preparatini olish
- 3) Sorbsiya pH =7,5 shu sharoitda to'liq ketadi
- 4) Desorbsiya 20mm HCl yordamida to'liq ketadi.
- 5) biospetsifik sorbent kapron asosida va soya ingibitori asosida sintezlanib tripsinni to'liq ushlaydi va desorbsiya sharoitida toza modda olshi mumkin.
- 6) olingan tripsin tozaligi bilan ajralib turadi. ( Oqsil bo'yicha 98% dan kam emas)
- 7) aktivligi 1,5 marta ko'p chiqdi va tripsin preparatlarini hamma talablariga javob beradi.

## References:

1. Сливкин А.И., Беленова А.С., Холявка М.Г. и др. Разработка биокатализатора на основе трипсина, иммобилизованного на хитозане. Сорбционные и хроматографические процессы 2013; 13(1): 53-9.
2. Логинова О.О., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Физико-химические и кинетические свойства гетерогенного биокатализатора на основе трипсина, иммобилизованного на матрице хитозана. Био-фармацевтический журнал 2015; 7(2): 13-6.
3. Harris L.G., Nigam Y., Sawyer J. et al. *Lucilia sericata* chymotrypsin disrupts protein adhesin-mediated staphylococcal biofilm formation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2018; 79: 1393-4.
4. Ubaydullayeva X.A., Otajonova N.S. Hakimova M.O. Qushtoron (*Polygonum aviculare*) o'simligining kallus kulturasini in vitro sharoitida olish. EURASIAN JOURNAL OF ACADEMIC RESEARCH. April 2023.