

**ОДАМ ҚОНИ ЗАРДОБИДАН ИЗОТРАНСФЕРРИНЛАРНИ
АЖРАТИБ ОЛИШ ВА УЛАРНИНГ ФИЗИК-КИМЁВИЙ
ТАВСИФИ**

Рузиев Ю.С.,
Мирахмедов А.К.,
Мангуш Х.А.,
Бугланов А.А.

Самарқанд Давлат Университети, ЎзРФА нинг Биокимё институти,
Соғлиқни сақалаш бош бошқармасига қарашли «Қон препаратлари»
илмий ишлаб чиқариш корхонаси

Маълумки, организмда ҳар хил йўналишларда содир бўладиган темир алмашинуви жараёнларининг бутун комплекси қон зардоби таркибидаги темирташувчи махсус оксил трансферрин (Tf) билан бевосита боғлиқ, бу оксил темирни, унинг донор хужайралари (ўн икки бармоқли ичакнинг энтероцитлари, ретикулоэндотелиал тизимнинг макрофаглари) ва темирнинг рецепиент хужайралари (эритробласт, суяк илиги ретикулоцитлари) ўртасида бу элементнинг ташилишини таъминлайди [1]. Трансферрин ўзининг физиологик функциясини бажаришда қайтар равишда юз берадиган жараён, яъни феррион (Fe^{3+}) ларни оксил глобуласини ўзаро мос ҳолда унинг N- ва C-учларида жойлашган иккита темирни ўзига бириктирувчи махсус марказларига бириктириб олади [2].

Шундай қилиб, Tf қон плазмасида икки хил полиморф оксил сифатида, яъни таркибида иккита холо Tf ёки диферри Tf деб номланган оксил сифатида ва таркибида Fe^{3+} учрамайдиган оксил сифатида мавжуд бўлади [3]. Tf нинг гетерогенлик феномени организмда темирнинг танқислиги ёки уни темир билан таъминланиш даражасини кўтарилишига ташхис қўйишда маълум муаммоларни келтириб чиқаради, чунки ташхисий тест-тизимларни сезгирлиги тест-тизимни тайёрлашда бу оксилнинг қайси изошаклларида фойдаланиши билан белгиланади.

Ишнинг мақсади- Tf нинг молекуляр изошакллари ажратиб олиш ва уларга физик-кимёвий тавсиф бериш.

Тадқиқотнинг манбалари ва услублари. Илмий ишда трансферриннинг йиғинди пулини ажратиб олиш учун энг замонавий физик-кимёвий биология усуллари анионалмашинувчи А-50 ДЭАЭ-сефадексида ўтказилган ион алмашинувчи хроматография; G-200 сефадексида ўтказилган гель хроматография; трансферринни темир билан тўйинишини назорат қилиш учун спектроскопиядан фойдаланилди.

Олинган натижалар ва уларнинг муҳокамаси. Қон зардобидан йиғинди Tf пулини ажратиб олиш учун хроматографик фракциялашнинг уч босқичли технологик режимдан фойдаланилди. Биринчи босқичда донордан олинган қон зардобидан 100 мл олиб, 12 соат давомида 3 литр ҳажмдаги pH 6.6 бўлган 0.02 М Na-фосфат буферга қарши диализланади.

Диализ жараёнида ажралган таркибида эуглобулин бўлган чўкма паст тезликда (5000 г/мин) 10 минут давомида центрифугалаб ажратиб олинади ва ташлаб юборилади. Tf билан тўйинган супернатант 2.6 x 80 смли А-50 ДЭАЭ сефадекс билан тўлдирилган ва pH 6.6 бўлган 0.02 М натрий фосфат буфери билан мувозанатланган хроматографик колонкасига киритилиб хроматографияланади. Элюция тезлиги перистальтик насос ёрдамида 30-40 мл/соат даражасида тутиб турилади.

Оксил фракцияларини оптик зичлиги Unicord III (Pharmacia, Швеция) спектрофотометрининг узлуксиз оқиб турувчи кюветасида λ -280 нмда қайд қилиб борилди. Биринчи хроматографик фракция ташлаб юборилди, Tf га бой фракция эса, анион алмашинувчи гелли колонкадан таркибида 0.05 М NaCl ли pH 6.6 бўлган кейинги 0.02 М натрий-фосфат буфери ёрдамида элюцияланади.

Коллекторда йиғилган фракциялар 8 мл этиб қўшилади, элюатнинг pH 1 мл NaOH дан фойдаланилган ҳолда 7.1 га етказилади. Бундан кейин Fe^{3+} нинг темир бириктирувчи марказларини тўйинтириш учун $NaHCO_3$ ва темир хлориднинг кристалларидан жуда оз микдорда қўшилади. Tf нинг бирлаштирилган фракциялари дистилланган сувга қарши жадал диализланади ва LZ-9 қурилмасида лиофилизацияланади.

Лиофил ҳолатда киритилган ярим тайёр махсулотни таркибида 0.2 М NaCl ли pH 8.0 бўлган 0.1 М трис-HCl буферда эритилади ва юқоридаги буфер эритма билан мувозанатланган G-200 солинган колонка (2.6 x 100 см) да гель хроматография ўтказилади. Бунда элюатнинг оқиб тезлигини 20-30 мл/соат этиб меъёрланади. Tf ни бу режимда гелфильтрация қилинганда учинчи хроматографик фракция ажратиб олинади.

Бу хроматографик фракция бирлаштирилади ва 24 соат давомида дистилланган сувга қарши диализланади. Бундан кейин лиофил ҳолатда қуритилган Tf фракциясини яна бир карра А-50 ДЭ-АЭ сефадекс тўлдирилган рН-8.0 бўлган 0.02 М трис-НСІ билан мувозанатланган, 2.6 x 80 смли колонкада ион-алмашинувчи хроматографияланади. Тозаланган Tf ни элюциялашни 0.02 М дан 0.2 Мгача бўлган чегарадаги трис-НСІ эритмасини чизикли градиенти чегарасида 60 мл/соат тезликда амалга оширилади. Таркиби иккинчи хроматографик чўкки фракциясини тутувчи тозаланган Tf фракциясини колонкада 0.05 М аммоний гидрокарбонатли G-25 билан тўлдирилган колонкада тузсизлантирилади ва лиофил ҳолатда қурилади. Йиғинда Tf пулини гомогенлигини тест-сировини натрий додецилсульфат (ДДС-Na) ли 8 % полиакриламид гел (ПААГ) да ўтказилган электрофорез асосида ўтказилади.

Электрофореграммада ягона оксил зонаси кузатилиб, гелдаги электрофоретик ҳаракатланиш даражаси бўйича молекуляр оғирлиги 77.0 кД ли полипептидга мос келади. Шунингдек одам Tfra (Behringwerke Германия) қарши амалиётда ишлатилаётган одам антизардобил билан ўтказилган им-мунокимёвий таҳлил ҳам, ажратиб олинган оксилни гомогенлигини тасдиқлайди.

Ажратиб олинган таркибда ҳар хил молекуляр изошакллари бўлган йиғинди Tf субстанцияси Tf нинг алоҳида темир билан тўйинган (холо-Tf) ва темир билан тўйинмаган (апо-Tf) изошакллари ажратиб олиш учун насос бўлиб хизмат қилади.

Tf нинг апошаклини ажратиб олиш учун бу оксилнинг йиғинди субстанциясини 1 М лимон кислотасига қарши жадал диализ қилишдан фойдаланилади, чунки нордон реакция муҳитда темир оксил молекуласидан осонгина ажралади.

Аксинча, Tf нинг темир билан тўйинган изошаклини ажратиб олиш учун олдиндан ажратиб олиш учун апо Tf нинг 1 % эритмаси аралашмасини 0.5 М FeCl₃ билан тўйинтирилади ва уни кечини назорати бўялган холо Tf эритмасини максимал оптик зичликка эга бўлган тўлқин узунлиги 470 нмда амалга оширилади.

Қизғиш ранга кирган холо Tf ҳосил бўлиш жараёнида апо Tf ни FeCl₃ билан титирланади ва кўрсаткич 0.567 га ётганда оптик зичлигини ошириш кузатилмайди, бу ҳолат эса, Tf эритмасини темир билан тўлиқ тўйинганлигини, яъни холо Tf ҳосил бўлганлигини исботлайди.

Муайян эритма кейинчалик рН 8.0 бўлган дистилланган сувга қарши диализланади, рН ишқорий бўлганда Fe³⁺ нинг оксил билан боғланиши сақланади ва уни лиофилизация йули билан қурилади. Ажратиб олинган Tf ни темир билан тўйинмаган (апо) ва тўйинган (холо) шакллари темирнинг организмдаги танқислиги ёки ошиқчалиги синдромига таъхис қўйишда таъхисий тест-тизимни тузиш учун дастлабки ингредиент сифатида ишлатиш мумкин бўлади.

Использованная литература

1. Калменов Г.Т., Бугланов А.А. Трансферрин в системе белков плазмы крови, некоторые клинико-диагностические и фармацевтические аспекты//Инфекция Иммунитет и Фармакология.-2009.-№ 1.- С.15-21.
2. Рузиев Ю.С., Мирахмедов А.К. Молекулярные аспекты обмена эссенциального биометалла железа в организме// Проблемы биологии и медицины.- 2010.- №3.- С.120-123.
3. Шереметьев Н.Н., Мангуш Х.А., Бугланов А.А. Гетерогенность сывороточного трансферрина и значение этого феномена для чувствительности тест-систем для диагностики железодефицитных состояний// Медицина и качество жизни.-2011.-№ 3.-С.49.

Рузиев Ю.С.,
Мирахмедов А.К.,
Убайдуллаева З.И.,
Полянская В.П.,
Мангуш Х.А.,
Тураева Д.Р.,
Бугланов А.А.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА В ДОНОРСКИХ СЫВОРОТКАХ С РАЗЛИЧНЫМ НАСЫЩЕНИЕМ ИХ ЖЕЛЕЗОМ

НПП «Кон препаратлари» ГУЗХ г. Ташкента,
Самаркандский государственный университет,
Ташкентский педиатрический медицинский институт

В клинико-диагностической практике для диагностики нарушений в обмене железа, в мониторинге эффективности проводимого лечения железодефицитных состояний (ЖДС) до настоящего времени довольно широко используются рутинные методы определения показателя общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС), латентной железосвязывающей способности сы-