



UDK:57.579.8

Farangiz NABIYEVA,
Samarqand Davlat Tibbiyot Universiteti o'qituvchisi
nabievafarangiz294@gmail.com
Gavhar DUSHANOVA,
Samarqand Davlat Universiteti dotsenti
E-mail:gavhar_1969@mail.ru
Mehrangiz NARZULLAYEVA,
Samarqand Davlat Tibbiyot Universiteti o'qituvchisi
E-mail:mexrangiznarzullayeva0091@gmail.com
Sadoqat OLIMJONOVA,
Samarqand Davlat Universiteti o'qituvchisi
E-mail:sadoqatolimjonova53@gmail.com

SamVMI dotsenti b.f.n. Xodjayeva N.J. taqrizi ostida

META-ANALYSIS OF ACTIVE ENZYMES OF THE SACHAROMYCES CEREVISIAE S288C STRAIN

Abstract

Enzyme immunoassay is a convenient, cost-effective and cost-effective method for medical and biological research. at the same time, we are facing a number of problems in the quick and accurate diagnosis of certain diseases that threaten the life and health of the world's population. It is important to create cheap and effective conjugates in the organization of IFT. Including the analysis of yeast *S. cerevisiae* enzymes for obtaining conjugates.

Key words: IFT, conjugate, *S. cerevisiae*, S288c, peroxidase, enzyme, enzyme.

МЕТА-АНАЛИЗ АКТИВНЫХ ФЕРМЕНТОВ ШТАММА SACHAROMYCES CEREVISIAE S288C

Аннотация

Иммуноферментный анализ является удобным, экономичным и экономически выгодным методом медико-биологических исследований. в то же время мы сталкиваемся с рядом проблем в быстрой и точной диагностике некоторых заболеваний, угрожающих жизни и здоровью населения земного шара. Важно создать дешевые и эффективные конъюгаты при организации ИФТ. В том числе анализ ферментов дрожжей *S. cerevisiae* для получения конъюгатов.

Ключевые слова: Иммуноферментный анализ, ИФА, *S. cerevisiae*, S288c, конъюгат, пероксидаза, фермент, фермент.

SACCHAROMYCES CEREVISIAE S288C SHAMMINING FAOL FERMENTLAR META-TAHLILI

Annotatsiya

Immunoferment tahlili tibbiy va biologik tadqiqotlar uchun qulay, tejankor va iqtisodiy samarali usul hisoblanadi. Ayni vaqtda jahon aholisining hayoti va sog'lig'iga tahdid soladigan ayrim kasalliklarni tez va aniq tashxislashda bir qator muammolarga duch kelmoqdamiz. IFT ni tashkil etishda arzon va samarali konyugatlarni yaratish dolzarb hisoblanadi. Shu jumladan konyugatlarni olish uchun zamburug' *S. cerevisiae* fermentlarining tahlili keltirilgan.

Kalit so'zlar: Immunoferment tahlil, IFT, *S. cerevisiae*, S288c, konyugat, peroksidaza, ferment, enzim.

Kirish. Zamonaviy biokimyo, biotexnologiya va analitik kimyoning ustuvor yo'nalishlaridan biri analitik usullarning samaradorligini oshirish uchun fermentlar yordamida test tizimlarini izlashdir. Ayni vaqtda immunoferment tahlili (IFT, ELISA) usullari keng q'llaniladi, bunda xren o'simligining ildizidan ajratilgan peroksidaza- kation izofermenti ko'pincha nishon sifatida ishlatiladi. Afsuski, XP har doim ham, xususan, barqaror signalga va yuqori sezuvchanlikka ega test tizimlarini yaratishda analitik tahlillar uchun maqbul emas. Bugungi kunda eng keng tarqalgan IFT usullaridan, birinchi marta 1971- yilda taklif qilingan qattiq fazali IFA hisoblanadi. IFT da q'llaniladigan fermentlar, 4 °C da uzoq yarim inaktivatsiya davri bilan tavsiflanadi va olti oydan ortiq davom etadi, fermentlar radiatsiya xavfini yaratmaydi va namunalarni ommaviy tahlil qilish uchun miqdoriy va vizual sifatli testlarni olish imkonini beradi. [2]

Ma'lum kamchiliklardan yana biri, IFT uchun fermentning antigen bilan konyugatsiyasida katalitik faolligining o'zgarishi yoki pasayishi bo'lishi mumkin. IFT faqat yaxshi o'rganilgan test tizimlar uchun q'llanilishi, unda tozalangan antigenlar va yuqori spetsifiklikka ega maxsus antitanalar bo'lishi ham usulning chekloviga kiradi.

Konyugat – sun'iy molekula, ko'pincha turli xil kelib chiqishga ega, kamida ikkita kimyoviy birlashtirilgan komponentlardan tashkil topgan. IFTni o'tkazishda ferment yoki boshqa nishon tanlab olinadi, antigenga, antitanaga yoki oqsilga biriktiriladi yoki tikiladi, masalan *Staphylococcus Aureus* A oqsiliga biriktirilgan- tikilgan konyugatlar q'llaniladi.

So'nggi yillarda fermentlarning yangi manbalarini izlash, konyugatlar olish uchun oqsil mahsulotlarini ajratishning biotexnologik usullarini q'llash, alohida qiziqish uyg'otmoqda. Shu nuqtai nazardan, ferment tanlash va biologik xususiyatlarini o'rganish uchun ba'zi fermentlar ma'lumotlarining meta-tahlilini o'tkazish dolzarbdir.

Saccharomyces cerevisiae eukariot mikroorganizm bo'lib, genetik jihatdan bakteriyalarga qaraganda ancha murakkab organism hisoblanadi. Achitqi hujayrasi *Escherichia coli* hujayrasiga nisbatan 3,5 baravar ko'p DNKni o'z ichiga oladi. [5]

1996 yilda *S. cerevisiae* genomi eukariotlarning birinchi to'liq tahrirlangan genomiga aylandi. *S. cerevisiae* geni taxminan 12,2 Mb ni tashkil qiladi, 6275 gen 16 xromosomada ixcham joylashgan. Ushbu genlarning atigi 5800 ga yaqini funktsional hisoblanadi. 2011 yilda genom to'plami va genom annotatsiyasi *Saccharomyces* genom ma'lumotlar bazasi-*Saccharomyces* Genome Database (SGD) tomonidan taqdim etilgan [1].

S288c shtammni 1938 yilda Emil Mrak Kaliforniyaning Mersed shahrida topilgan, chirigan anjirdan mevasidan ajratib olgan. Robert Mortimer S288c shtammning noyob reproduktiv siklidan foydalanib, anjirdan ajratilgan shtammi bilan olimlar tomonidan ajratilgan boshqa achitqi zamburug'i shtammlarini genetik jihatdan chatishtirdi. Natijada, u S288c deb nomlangan yangi shtammni yaratdi, keyinchalik bu shtamm hozirgi vaqtda tadqiqotda qo'llaniladigan mutant shtamlarning ko'pini ajratib olish uchun ota-ona shtammi sifatida ishlatilgan. Bundan tashqari, bu shtamm keyinchalik *S. cerevisiae* genomini sekvenirlash uchun ishlatilgan.[3]

***Saccharomyces cerevisiae* ning asosiy shtamlari**

S288c: Ushbu shtamm 1950-yillarda Robert K. Mortimer tomonidan genetik chatishtirish orqali ajratilgan. U mutantlarni ajratishda asosiy shtamm sifatida ishlatilgan. S288c shtammi 1996 yilda *S. cerevisiae* genomi to'liq sekvenirlashda foydalanilgan. Biroq, muhitda azot va o'stiruvchi omilning yetishmasligi sharoitida, uning spora hosil qilish tezligining pasayishi olimlarni tadqiqot uchun muqobil shtamlarni tanlashga undadi.

A634A: hujayra siklini o'rganishda qo'llaniladi. Bundan tashqari, S288c va boshqa noma'lum shtamm bilan chatishganligi sababli S288c bilan chambarchas bog'liq.

BY4716: S288c bilan deyarli bir xil bo'lgani uchun u ko'pincha etalonlar sifatida ishlatiladi.

CEN.PK: Yevropada zamburug'lar genomini o'rganishda S288c bilan birga ikkilamchi etalon shtammi sifatida ishlatiladi. Bundan tashqari, u turli xil uglerod manbalarida, shuningdek, anaerob sharoitda yaxshi o'sishi mumkin. U o'sish sur'ati va mahsulot shakllanishini o'rganishda qo'llaniladi.

Σ1278b: Bu shtamm azot almashinuvida ishtirok etuvchi noyob genlarni o'z ichiga olganligi bilan farq qiladi. Ushbu shtammni azot yetishmovchiligida o'rganish yaxshi natijalarni bergan, bunday sharoitda hujayralar cho'zilishi ro'y beradi va hujayralarunikal patternlar hosil qiladi, bir-biriga jismonan yaqinlashadi, bog'langan holda o'ziga xos kurtaklanishni hosil qiladi.

SK1: Ushbu shtamm ko'p spora hosil qilganligi sababli, u meiotik tadqiqotlarda qo'llaniladi.

W303: S288c ni noma'lum shtamm bilan chatishganligi sababli S288c bilan chambarchas bog'liq bo'lib, u genetik va biokimyoviy tahlilda qo'llaniladi.

S288c shtammning asosiy fermentlari [(www.ncbi.nlm.nih.gov)]

PHO5 - acid phosphatase- kislotali fosfataza, nukleozidtrifosfataza va nukleozidtrifosfatdifosfataza faolligini faollashtiradi. Fosfat yetishmovchiligida hujayra javobida va fosfat saqlovchi birikmalarning metabolik jarayonida ishtirok etadi. Zamburug' hujayra devorida joylashgan. 2-xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 1381 nukleotid asosga ega.

PHO3 - acid phosphatase PHO3 [Saccharomyces cerevisiae S288C]- kislotali fosfataza faolligini faollashtiradi. Fosfat o'z ichiga olgan birikmalarning metabolik jarayonida va tiamin saqlovchi birikmalarning metabolik jarayonida ishtirok etadi. U hujayra devori bilan chegaralangan periplazmik bo'shliqda joylashgan. 2-xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 1381 nukleotid asosga ega.

PHM8- bifunctional nucleotidase/lysophosphatidic acid phosphatase- lizofosfatid kislota fosfataza va nukleotidaza faolligini ta'minlaydi. Nukleotidlarning katabolik jarayonida, ochlikka bo'lgan reaksiya, va triglitserid gomeostazida ishtirok etadi. Sitoplazma va yadroda joylashgan. U 5-xromosomada joylashgan. Ekzonlar soni 1 ta, 962 ta nukleotid asosga ega.

PHO11 - acid phosphatase PHO11 [Saccharomyces cerevisiae S288C] - kislotali fosfataza faolligini faollashtiradi. Fosfat saqlovchi birikmalar metabolik jarayonda ishtirok etadi deb taxmin qilinadi. Hujayradan tashqari bo'shliqda joylashgan. 1-xromosomada joylashgan, ekzonlar soni 1 ta, 1381 ta nukleotid asosga ega.

PHO12 - acid phosphatase PHO12 [Saccharomyces cerevisiae S288C] - kislotali fosfataza faolligini faollashtiradi. Defosfolirlanish reaksiyalarida ishtirok etadi. U zamburug' vakuolasida joylashgan. 8- xromosomada joylashgan, ekzonlar soni 1 ta, 1381 ta nukleotid asosga ega.

DET1 (acid phosphatase DET1)- kislotali fosfataza faolligini faollashtiradi. Defosforirlanish va sterollarning hujayra ichidagi transportida ishtirok etadi. Sitoplazma va yadroda joylashgan. 4-xromosomada joylashgan, ekzonlar soni 1, 961 nukleotid asosga ega.

YER134C Mg-dependent acid phosphatase- kislotali fosfataza faolliigi va metallga bog'liq proteintirozinfosfataza faolligini ta'minlaydi. U peptidiltirozinning defosforillanishida ishtirok etadi deb taxmin qilinadi. U sitoplazma va yadroda joylashgan, 5-xromosomada joylashgan, ekzonlar soni 1, 481 ta nukleotid asosga ega.

DIA3 putative acid phosphatase- kislotali fosfataza faolligini oshirishda ishtirok etishi taxmin qilinadi. Glyukoza cheklanishi va psevdogifal o'sishiga javoban invaziv o'sishda ishtirok etadi. Zamburug' hujayra devorida joylashgan. 4-xromosomada joylashgan va ekzonlar soni 1, 1381 nukleotid asosga ega.

PAH1 phosphatidate phosphatase- fosfatidatfosfataza faolligini va transkripsiyani sis-boshqarish hududining bog'lanish faolligini ta'minlaydi. Bir nechta jarayonlarda, jumladan, lipid tomchilarini hosil qilishda, triglitseridlarning biosintezi jarayonida va avtofag bo'lmagan vakuola sintezida ishtirok etadi. Membrananing tashqi qismi komponentidir. 13- xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 2581 nukleotid asosga ega.

LTP1 tyrosine protein phosphatase- proteintirozinfosfataza faolligini faollashtiradi. Oqsil defosforirlanishida ishtirok etadi. Sitoplazma va yadroda joylashgan. 14- xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 781 nukleotid asosga ega.

LPP1 phosphatidate phosphatase- fosfatidfosfataza faolligini faollashtiradi. Fosfolipidlar almashinuvi jarayonlarida ishtirok etadi. Membranada joylashgan. 4-xromosomada joylashgan, ekzonlar soni 1, 781 nukleotid asosga ega.

BGL2 glucan 1,3-beta-glucosidase- 1,3-beta-glukanoziltransferaza va glyukan-endo-1,3- beta- D-glyukozidaza faolligini ta'minlaydi. Zamburug' hujayra devorini tashkil qilishda ishtirok etadi. 7- xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 901 nukleotid asosga ega.

EXG1 glucan 1,3-beta-glucosidase- glyukan ekzo-1,3-beta-glyukozidazani faollashtiradi deb taxmin qilinadi. Glyukanning hujayra metabolizmida ishtirok etadi. Hujayra devorida va hujayradan tashqari hududda joylashgan. 12-xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 1321 nukleotid asosga ega.

URE2 glutathione peroxidase- glutationperoksidaza faolligini va fosfoproteinlarni bog'lash faolligini ta'minlaydi. Bir qancha jarayonlarda, shu jumladan sitoplazmatik transkripsiya omilini sekvenirlashda ishtirok etadi. Sitoplazmada va yadroda 14-xromosomada kodlanadi, ekzonlar soni 1 ta, 1021 ta nukleotid asosga ega.

CCP1 cytochrome-c peroxidase- sitoxrom-c-peroksidaza faolligini faollashtiradi. Oksidlanish stressiga hujayra javobida ishtirok etadi. U mitoxondrial membranalararo bo'shliqda joylashgan. 11-xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 1081 nukleotid asosga ega.

TSA1 thioredoxin peroxidase- ribosomalarni bog'lash faolligi, tioredoksinperoksidaza faolligi va oqsillarni bog'lash faolligi kabi bir nechta funksiyalarni o'z ichiga oladi. Bir nechta jarayonlarda, jumladan DNKning shikastlangan nuqtalarda signalni uzatishda, DNK reparatsiyasi va hujayralarning oksidlanish- qaytarilish gomeostazida ishtirok etadi. Sitozolda joylashgan. Polisomaning bir qismi. 13-xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 541 nukleotid asosga ega.

TSA2 thioredoxin peroxidase- tioredoksinperoksidaza faolligini faollashtiradi. Hujayralarning oksidlanish- qaytarilish gomeostazida ishtirok etadi. oksidlanish stressiga hujayra reaksiyasi va oqsil denaturatsiyasida ishtirok etadi. Sitoplazmada joylashgan. U bir nechta inson genlari, jumladan PRDX1 peroksiredoksin 1 va PRDX2 peroksiredoksin 2 va PRDX4 peroksiredoksin 4 uchun ortolog hisoblanadi. 4-xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 541 nukleotid asosga ega.

GPX2 glutathione peroxidase- glutation peroksidaza va fosfolipid-gidroperoksidglutathionperoksidaza faolligini ta'minlaydi. Oksidlanish stressiga hujayra javobida ishtirok etadi. Sitoplazmada joylashgan. U ichki mitoxondrial membrananing tashqi qismi va tashqi mitoxondrial membrananing tashqi qismidir. GPX4- glutation peroksidaza 4 kabi bir nechta inson genlariga ortologik hisoblanadi. 2-xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 481 nukleotid asosga ega.

GPX1 glutathione peroxidase- glutation peroksidaza va fosfolipid-gidroperoksidglutathionperoksidaza faolligini ta'minlaydi. Oksidlanish stressiga hujayra javobida va peroksisomalarning hosil b'lishida ishtirok etadi. Peroksisomal matriksda joylashgan. Mitoxondriyaning tashqi membranasi tarkibiy qismidir. GPX4- glutation peroksidaza 4 kabi bir nechta inson genlariga ortologik. 11-xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 481 nukleotid asosga ega.

GTT1 bifunctional glutathione transferase/peroxidase- glutationperoksidaza faolligini va glutathiontransferaza faolligini ta'minlaydi. Glutathion metabolizmida va oqsilning glutathionillanishi jarayonida ishtirok etadi. U endoplazmatik retikulumda joylashgan. 9-xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 661 nukleotid asosga ega.

CTT1 catalase T - katalaza faolligini faollashtiradi. Aktiv kislorod shakliga reaksiyada ishtirok etadi. Sitoplazmada joylashgan. Inson CAT – katalaza uchun ortologik. 7- xromosomada lokalizatsiya qilingan, ekzonlar soni 1, 1681 nukleotid asosga ega.[8]

Jadval 1.

№	Gen nomi	Gendagi nukleotidlar soni	Oqsil tarkibi (aminokislota qodig'i)
1.	PHO5	1381	475
2.	PHO3	1381	466
3.	PHM8	962	317
4.	PHO11	1381	471
5.	PHO12	1381	471
6.	DET1	961	333
7.	YER134C	481	218
8.	DIA3	1381	82
9.	PAH1	2581	862
10.	LTP1	781	160
11.	LPP1	781	274
12.	BGL2	901	313
13.	EXG1	1321	505
14.	URE2	1021	412
15.	CCP1	1021	361
16.	TSA1	541	196
17.	TSA2	541	195
18.	GPX2	481	162
19.	GPX1	481	168
20.	GTT1	661	234
21.	CTT1	1681	567

Jadval 1 keltirilgan ma'lumotlarga ko'ra, *Sacharomyces cerevisiae* S288c shtammi fermentlari orasida IFA uchun konyugat olish maqsadida PAH1, EXG1, CTT1, PHO5 fermentlarini tavsiya qilish mumkin. PAH1 geni 2581 nukleotiddan iborat bo'lib, 862 aminokislota qoldig'idan iborat fermentni kodlaydi. Molekulyar massasi konyugat olish uchun optimal hisoblanadi. EXG1 geni 1321 nukleotiddan iborat bo'lib, ferment tarkibida 505 aminokislota qoldig'i mavjud. Konyugat olish uchun fernet molekulyar massasi optimal hisoblanadi. CTT1 geni 1681 nukleotiddan iborat, ferment tarkibi 567 aminokislota qoldig'idan iborat va konyugat olish uchun optimal hisoblanadi. Shu jumladan, PHO5 geni 1381 nukleotiddan iborat bo'lib, ferment 475 aminokislota qoldig'idan iborat, konyugat olish uchun imkonini berishi mumkin.

ADABIYOTLAR

1. Favaro L., Jansen T., van Zyl W. H. Exploring industrial and natural *Saccharomyces cerevisiae* strains for the bio-based economy from biomass: the case of bioethanol //Critical reviews in biotechnology. -2019. -T. 39. -№. 6. -C. 800-816.
2. Zhang L. et al. Development and application of a monoclonal antibody-based blocking ELISA for detection of antibodies to Tembusu virus in multiple poultry species //BMC veterinary research. -2018. -T. 14. -№. 1. -C. 1-8.
3. www.ncbi.nlm.nih.gov.
4. Абдуллабекова Д. А., Магомедова Е. С., Гасанов Р. З. Исследование способности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* к образованию технологически значимых соединений //Магарач. Виноградарство и виноделие. - 2019. - Т. 21. - №. 2. - С. 143-146.
5. Анцилевич Л.М., Ягудина Л.А. Практическое применение иммуноферментного анализа в диагностике заболеваний // Практическая медицина. 3 (79). Июль 2014 г. 28 с.

6. Джахонгирова Г. З. и др. Исследование ферментативной активности дрожжей и особенностей роста на питательной среде из рисовой муки //Universum: технические науки. -2018. -№. 3 (48). -С. 24-26.
7. Сухоедова А.В., Меньшиков В.В. Технология использования антигенов в производстве тест-систем для иммуноферментного анализа // Успехи в химии и химической технологии. Том XXX, 2016. № 2. 75 с.
8. Тарасова А. В. и др. Исследование биологической активности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* фотометрическим методом.