

‘O‘ZA O‘SIMLIGI HUJAYRASIDAN YADRO AJRATIB OLISH USLUBI

G‘o‘za o‘simligi hujayrasidan yadro ajratib olish usuli.

Material va asbob uskunalari. 50 g ikki kunlik g‘o‘za o‘simtasi, 100 ml 70% spirt, 1 metr kapron, gomogenizator, K-23, K-32 sentrifugalari probirkalari bilan, 2 ta stakan va 2 ta kolba.

Ishning borishi. 50 g 2 kunlik g‘o‘za o‘simtasi 70% spirtida 2 daqiqa saqlangandan so‘ng distillangan suvda yuviladi. SHu yo‘sinda sterillangan g‘o‘za o‘simtasiga 150 ml A buferi solinadi va 30 sek. davomida yuqori aylanishga ega bo‘lgan (25000-30000 ayl/daq.) o‘tkir pichoqli gomogenizatorida maydalanadi. Gomogenat 4 qavatli sterillangan kapron yordamida filtrlanadi va hujayra bo‘laklarini olib tashlash uchun 10 daqiqa 4⁰ S haroratda 600 ayl/daq. tezlikda K-23, sentrifugasida aylantiriladi va cho‘kma tashlab yuboriladi. Supernatant 1800 ayl/daq. tezlikda 10 daqiqa, 4⁰ S haroratda K-23 sentrifugasida aylantiriladi. Cho‘kma 10 ml B buferi suspenziya holatiga keltiriladi va qatlamli saxaroza (1,6; 2,2 M) gradientining yuqori qismiga ehtiyotkorlik bilan quyiladi. Saxaroza eritmasi V buferi yordamida tayyorlanadi. Hosil qilingan gradient 22000 ayl/daq. tezlikda 4⁰ S haroratda 2 soat K-23 sentrifugasida aylantiriladi (baket rotorda). Cho‘kmada shikastlanmagan funksional faol yadro joylashadi.

Bufer eritmalar.

Bufer A: 0,4 M mannit; 50 mM tris HCl, 3 mM EDTA, 1% PVP, 1 mM oktanol, 0,1%

Albumin (hayvon zardobidan olingan), rN 8,0.

Bufer B: 50 mM tris HCl, rN 7,5, 10 il NaCl₃, 10 mM MgCl₂

Bufer V: 50 mM tris HCl, rN 7,5, 25 mM NaCl, 10 mM MgCl₂