

O'simlik bargidan DNK ajratish.

Material va asbob uskunalari. 4 g 14 kunlik g'o'za barglari, havoncha, sentrifuga, sentrifuga stakanlari, 2 ta kolba, 2 ta stakan, shisha tayoqcha, refraktometr, dializ qog'ozi, magnitli aralashtirgich, spektrofotometr va muzlatgich.

1. 4 g barg havonchada suyuq azot yordamida kukun holiga kelguncha maydalanadi.
2. Kukunni 50 ml bufer V bilan birga kolbaga solinadi va 20 daqiqa davomida aralashtirib turiladi.
3. 30 ml fenol qo'shiladi va yana aralashtiriladi (30 daq.).
4. K-23 sentrifugasida 10^0 S da 5000 ayl/daq. tezlikda 1 soat aylantiriladi.
5. Ustki qismi toza kolbaga olinib teng miqdorda fenol-xloroform aralashmasi solinib, 10 daqiqa aralashtiriladi.
6. 30 daqiqa 10^0 S da 5000 ayl/daq. tezlikda sentrifugalanadi.
7. Ustki qismini olib teng miqdorda xloroform qo'shib, 10 daqiqa aralashtiriladi va yana sentrifugalash yo'li bilan fazalarga bo'linadi.
8. Suyuq qismi 2 miqdor etil spirti solingan stakanga asta sekinlik bilan aralashtirilib muzlatgichga qo'yiladi. "Meduza" hosil bo'lgandan so'ng tayoqchaga o'rab olinib 10 ml DNK erituvchi (TE) buferida stakanda eritiladi.
9. DNK eritmasiga etidiy bromid 0,2 mg/ml va 1,55 g/ml seziy xlor solinadi (sinish ko'rsatkichi 1,3860).
10. Suyuqlik sentrifuga probirkalariga solinadi va tenglashtirib og'zi mahkamlangandan so'ng 20 soat 50000 ayl/daq. tezlikda (15^0 S) sentrifugalanadi.
11. UF nurlari ostida DNK shprints yordamida tortib olinadi.
12. DNK ni etidiy bromididdan izoamil spirtida 5 marta ekstraktsiya qilib tozalanadi.
13. DNK ni seziy xlordan TE buferida 10^0 S da 24 soat magnitli aralashtirgichda buferni bir necha marta almashtirib dializ qilish yo'li bilan tozalanadi.
14. DNK miqdorini spektrofotometrda 260 nm to'lqin uzunligida kvarsli kyuvetada o'lchanadi.

V buferi:

0,2 M NaCl

0,05 M HCl pH 8,0

0,01 M EDTA

0,01 M DDT

0,2% SDS

Fenol, 0,1 M NaCl; 0,1 M tris HCl; rN 8,0; 0,01 M EDTA bilan to'yintirilgan.

Xloroform : izoamil spirti (24:1)

TE buferi 10 mM tris HCl, rN 8,0.

1 mM EDTA

4,5 seziy xloridning TE buferda eritmasi

Etidiy bromid eritmasi 10 mg/ml

Dializ uchun bufer: 10 mM tris rN 8,0; 1 mM EDTA.