

DNK-NI SPEKTROFOTOMETR USULI YORDAMIDA AJRATISH

*Farg`ona Davlat Universiteti
Zoologiya va umumiy biologiya kafedrası
Mumtozjon Tursunov G'ayratjon o'g'li
Biologiya yo'nalishi 3-bosqich
20-71 E guruh talabasi
Xolmatov Asadbek G'ulomjon o'g'li*

Annotatsiya: Ko'pincha, izolyatsiya qilingan DNK preparatining miqdoriy va sifatli bahosi birinchi yaqinlashuvda gel elektroforezi paytida beriladi, bu, qoida tariqasida, izolyatsiyalash jarayonidan so'ng darhol amalga oshiriladi. Buning uchun olingan namunaning ultrabinafsha lyuminesans intensivligi ma'lum konsentratsiyali namunaga ega qo'shni gel yo'llarida vizual tarzda taqqoslanadi. Spektrofotometr yordamida DNK konsentratsiyasini, shuningdek, uning tozalik darajasini aniqroq va tezroq aniqlash mumkin.

Kalit so'z: DNK, spektrofotometri, nuklenkislota, chiziqlilik (ish diapazoni), ribasoma.

DNK spektrofotometr- Inson DNKsi NIST SRM 2372 NanoDrop spektrofotometri yordamida DNK miqdorini aniqlashning analitik usulini tasdiqlash uchun ishlatilgan. Natijalar Sprague Dawley kalamushlari va inson donorlaridan olingan DNK bilan taqqoslandi.

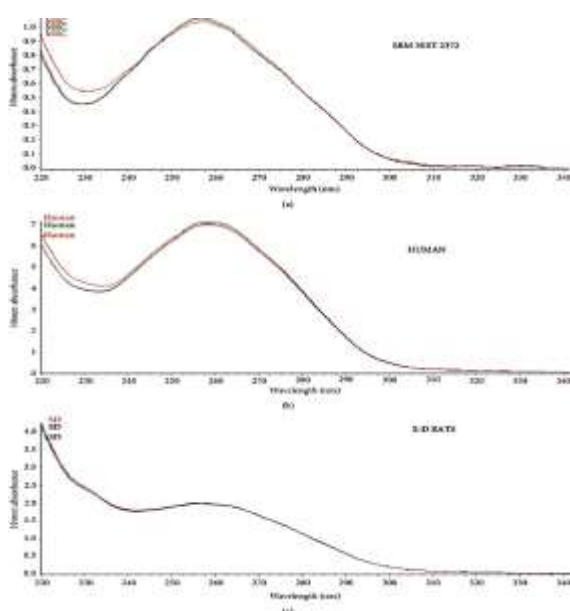
Inson donorlari va Sprague Dawley kalamushlaridan qon namunalarini to'plash

Inson qon namunalari 35 yoshdan 50 yoshgacha bo'lgan sakkizta klinik jihatdan sog'lom ayollardan olingan. Loyihaning xususiyatlari milliy va xalqaro axloq qoidalari [20, 21] talab qilganidek, ularning roziligini olishdan oldin ularga tushuntiriladi. Keyin, biz vena ichiga ponksiyon orqali periferik qon ekstraksiyasini davom ettirdik, bu geparinlangan naychalarda Vacutainer tizimi yordamida amalga oshirildi [22]. Ushbu loyiha Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC (CIAD AC) Etika qo'mitasi tomonidan tasdiqlangan (Folio CE/007/2018. Tasdiqlangan sana: 2018-yil 09-may).

Chiziqlilik (ish diapazoni)

Kalibr lash egri chizig'ini baholashdan oldin biz odamlar va Sprague Dawley kalamushlarining DNK namunalarining UV spektrlari sertifikatlangan DNK (NIST SRM 2372) DNKning UV spektrlari bilan mos kelishini tekshirdik. Ko'rinib turganidek1-rasm, absorbans spektrlarini solishtirganda azotli asoslarning xarakterli cho'qqisi 260 nm va vodiy 230 nm oqsillarga xosdir. Periferik qondan olingan inson DNKsining dastlabki konsentratsiyasi 91,55 ng/ mL, tozaligi 1,86; Sprague Dawley

kalamush DNKsining dastlabki konsentratsiyasi 57,9 ng/ mL, tozaligi 1,95; va NIST SRM 2372 ning dastlabki konsentratsiyasi 260 nm da aniqlangan 57 ng/ μ L, tozaligi 260/280 nm da 2 ga teng edi. Kalibrlash egri chiziqlarida foydalanilgan DNK konsentratsiyasi Sprague Dawley kalamush DNKsi uchun 86,13, 28,10, 9,86, 3,20 va 1,20 ng/ μ L inson DNKsi uchun 86,26, 29,13, 10,20, 3,73 va 1,26 ng/ mL 69,13, 23,73, 7,53, 2,06 va 0,23 ng/ μ L. NIST SRM 2372 DNK uchun L. Grafikdagi yutilish qiymatlari DNK namunalarining har birining uchta replikatsiyasining o'rtacha qiymatini bildiradi. Pearson korrelyatsiya koeffitsienti (R) mos ravishda SRM, Sprague Dawley kalamushlari va inson DNKsi uchun 0,9999, 1,0000 va 1,0000 ni tashkil etdi. $R \geq 0,9950$ qabul qilish mezonlarini hisobga olgan holda , uchta DNK manbalarining kalibrlash egri chiziqlari [5] ga muvofiq qabul qilinadi.



1-rasm. (a) sertifikatlangan mos yozuvlar standarti (NISTSRM2372), (b) odamlar va (c) Sprague Dawley kalamushlari DNKsining spektroskopik xususiyatlari.

ADABIYOTLAR RO'YXATI:

1. Magnusson B., Ornemark U., muharrirlar. Eurachem qo'llanmasi: Analitik usullarning maqsadga muvofiqligi – metodlarni tekshirish bo'yicha laboratoriya qo'llanmasi va tegishli mavzular. 2. 2014. Eurachem qo'llanmasi: analitik usullarning maqsadga muvofiqligi. 2. Gallagher SR Absorbtsion va floresan spektroskopiya bilan ADN va ARN miqdorini aniqlash. Inson genetikasidagi joriy protokollar. 1994-yil; 0 (1):A.3D.1–A.3D.8. doi: 10.1002/0471140864.psa04ks52.
3. Dejardin PR, Conklin DS Nuklein kislotaning mikrovolume miqdori. Inson genetikasidagi joriy protokollar. 2011; 93 (1):A.3J.1–A.3J.16.
4. Sukumaran S. Nuklein kislotalar va oqsillarning konsentratsiyasini mikro hajmli bio-spec nanospektrofotometr yordamida aniqlash. Vizualashtirilgan tajribalar jurnali. 2011;1–5 (48): bet. 2699. doi: 10.3791/2699.
5. Dejardin P., Conklin D. NanoDrop nuklein kislotalarning mikrohajmi miqdorini aniqlash. Vizualashtirilgan tajribalar jurnali. 2010; 45 (1) doi: 10.3791/2565.