

### **13-Laboratoriya ishi**

#### **Tuxum oqsili – albuminni ajratish**

Tuxum tarkibidagi oqsilning 70% ini albumin tashkil qiladi. Albuminni globulindan ajratish uchun tuxum oqsili distillangan suvning 10% li eritmasida suyultiriladi. Globulinlar tuzi eritmada yaxshi eriydi, suv bilan eritilganda esa ular cho'kmaga tushadi. Eritmani filtrlash yoki sentrifugalash yo'li bilan albuminlar globulinlardan ajratib olinadi.

**Tekshiriluvchi material:** tuxum oqsili.

**Reaktivlar:** distillangan suv.

**Kerakli anjomlar:** 100 va 500 ml sig'imli kimyoviy stakan, 250 va 500 ml sig'imli silindrlar, 100 ml sig'imli kolba, voronkalar, shisha tayoqcha, filtr qog'oz, sentrifuga.

**Bajariladigan ish tartibi.** Tuxum qobig'ining ikki tomonidan teshikcha ochib, uning oqsili 500 ml sig'imli stakanga solinadi va ustiga 250 ml distillangan suv solib, shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi. Eritmaning hajmi 300 ml ga yetguncha distillangan suv qo'shiladi. Oqsil eritmasi 30 daqiqa uy haroratida qoldiriladi. Bir ozdan so'ng probirka tubiga globulinlar chukkani ko'rinadi. Eritma filtr qog'ozdan o'tkaziladi. Filtratda qolgan suyuqlik bilan oqsilga xos sifat reaksiyasi o'tkazilib, uning miqdori Louri yoki Biuret usuli bilan aniqlanadi.

#### **Tuxum albuminini tuz bilan cho'ktirish orqali ajratib olish**

**Ishning umumiy izohi.** Tuxum oqsilidan bosqichma-bosqich tuz bilan cho'ktirish orqali (oldindan 50% li to'yintirilishda tushgan cho'kmani olib tashlab) hamda dializ yo'li bilan albumin qismi ajratiladi.

**Jihozlar va reaktivlar.** 100 ml o'lchagich silindr, stakan, tsentrafuga, (vakuum – filtrlagich qurilmasi) SF-26, ammoniy sulfat, 1 dona tuxum (tovuqniki), dializ membranasi, dializ uchun kamera (2 l).

**Ishning borishi.** Tuxum oqsili sarig'idan ajratiladi va o'lchagich silindriga solinib, uning hamma suv bilan 50 ml gacha, yetkaziladi va 15, 65 g ammoniy sulfat qo'shiladi asta-sekin aralashtiriladi. Hamma tuz bo'lakdari erigandan so'ng yarim

to'yingan tuz eritmasidan tushgan globulin cho'kmasi sintrafuga qilinib (3-5 ming ayl/min) yoki qalin filtr qog'oz orqali filtrlab ajratiladi. Filtrat (cho'kma ustidagi suyuqlik) o'lchagich silindrga yig'iladi, hajmi o'lchanib, tuzni erishi qulay bo'lguncha stakanga o'tkaziladi va eritmada ammoniy sulfat tuzining to'yinish darajasi 70% gacha yetkaziladi. Tuzning miqdori quyidagi formula yordamida hisoblanadi.

$$X=[0,515V(C_2-C_1)] : [1-(0,272C_2)]$$

Bu yerda: X – berilgan to'yinish darajasi uchun olingan tuzning miqdori, grammda, V – oqsil eritmasining hajmi, ml da,  $C_1$  – tuzning dastlabki to'yinish darajasi (o'nli bo'laklarda 100% = 1,00);  $C_2$  – berilgan to'yinish darajasi. Kerakli miqdordagi ammoniy sulfat erigandan so'ng, loyqalangan aralashma cho'kma hosil qilish uchun 30-40 minut qoldiriladi. Ovalbumin cho'kmasi glabulinlar kabi yig'ib olinadi. Cho'kma agarda filtrlash ishlatilgan bo'lsa – filtr qog'oz cho'kma bilan birga holda oz hajmdagi suvda aralashtirilib, dioliz qopchasiga (naycha) solinadi va tuzni chiqarib yuborish uchun dializ qilinadi.

Buning uchun dializ qopchasi (naycha) iliq suv bilan ho'llanib bir uchi bog'lanadi va varonka yordamida oqsil eritmasi bilan to'ldiriladi. Dializ 4 marta 20 mm PH= 7,4 bo'lgan natriy fosfat buferi eritmasida har galgi almashinishi 1 soatdan kam bo'lmagan holda olib boriladi.

Dializning dastlabki 2 soatini suv bilan olib borish mumkin. Dializotdagi ovalbuminning konsentratsiyasi 260 va 280 nm da yutilishi bo'yicha, nomogrammiga asosan aniqlanadi.

**Olingan natijalarni rasmiylashtirish.** Olingan natijalarni daftaringizga yozing, tegishli xulosa chiqaring. Biuret va Louri usullarining asosini tushuntiring.