

**Labaratoriya mashg'uloti: Toza virus preparatini olish yo'llarini o'rganish**  
**Mashg'ulotdan maqsad.** Tabiatda yoki laboratoriya sharoitida birga aralash holda uchraydigan viruslarni bir-biridan ajratish metodi bilan tanish tirish .

**Kerakli materiallar.** 1. Yaltirbosh mozaikasi virusi (molekula massasi 4-106).  
2. TMV (molekula massasi 40-106). Arpaning Viner navi hamda oldingi mashg'ulotda ishlatilgan materiallar.

**a) Xromatografiya kolonkasini tayyorlash.** Huddi oldingi mashg'ulotdagidek olib boriladi, ammo gel kolonkasining uzunligi 80-90 sm bo'lishi yaxshi natija beradi. Elyuent ishlatilganda ham aralashmani tashkil qilayotgan ikkala viruslar uchun optimal bufer olinadi. TMV va YAMV uchun pH6 bo'lishi ikkala virus uchun ham bexavotirroq hisoblanadi YAMVni gelga qisman adsorbsiyasining oldini olish uchun buferga 0,1 M KC1 solinadi. Gelfiltratsiya tugashi bilan yana ikkala virus fraksiyalarini o'zlari uchun optimal bo'lgan pHga o'zgartiriladi, ya'ni TMVni pH 7,5ga ko'tarilsa, YAMV ning pH 4,8 ga tushiriladi.

**Ishning borishi.** Uzunligi 1,2 x 80-90 sm uzunlikdagi 5%li granullangan agaroz kolonkasini 0,05 M fosfat buferi (pH6-6,2) bilan 3 hajm bufer bilan yuvilgandan so'ng TMV-YAMV aralashmalaridan 50 mg ni (1-2 ml 0,05 M Fosfat buferidagi) kolonkaga solinadi, virus aralashmalari filtr orqali gelga diffuziya bo'lishi bilan pH 6,2, ga teng bo'lgan 0,05 M fosfat buferiga teng bo'lgan 0,05 M fosfat buferi bilan yuvish boshlanadi.

Kolonkadan chiqadigan fraksiyalar kollektorda 3 ml dan yig'ib olinadi. Gelfiltratsiya o'tkazish tezligi 6-8 tomchi/min yoki undan ham sekinroq qilib moslanadi. Gelfiltratsiya 10-14 soat davom etadi. Olingan fraksiyalar analizi xuddi oldingi mashg'ulot kabi o'tkaziladi, ammo bu gelda ikkinchi analizda YAMV antizardobi ishlatiladi.

1.Xuddi oldingi mashg'ulotdagidek fraksiyalarni 260 nm va 280 nm to'lqin uzunligida UB-nurlarni yutishi aniqlaniladi, ikki cho'qqiga ega egri chiziq olinadi. 1 cho'qqini D 260/D 280 nisbati 1,2 ga va ikkinchi cho'qqiniki 1,6-1,7 ga teng (tarkibida 20% atrofida RNK ga ega nukleoproteidlarni UB - nurlarini ikki to'lqin uzunligida yutish natijalari nisbati 1,6 ga teng hisoblanadi) bo'ladi.

2.Ikki cho'qqi fraksiyalarini UB-spektrlarida UB nurlarini yutish cho'qqisi 260 nm ga to'g'ri keladi, minimumi 245 nm.

3.Ikkala fraksiya viruslarini elektron mikroskopda ko'rilganda 1 cho'qqi fraksiyalarida faqat spiralsimon viruslar bo'ladi.

4. Birinchi cho'qqi fraksiyalari N. glutinosa da (48 soatdan so'ng) nekrozlar hosil qiladi, ikkinchi fraksiya esa (Chenopodium amaranticolor da nekrozlar hosil qiladi.

5. Birinchi cho'qqi fraksiya viruslari TMV ga tayyorlangan antizardob bilan, ikkinchi cho'qqi fraksiyasi viruslari YAMV ga tayyorlangan virus antizardobi bilan PCH hosil qilsa, demak TMV va YAMV to'la ikki cho'qqi fraksiyalariga ajralganligi haqida fikr yuritiladi.

Demak, 5% li granulalangan agaroz kolonkasida ikki xil shaklli viruslarni tuliq ajratish mumkin.