

எலக்ட்ரோபோரோசிஸ்

முனைவர் ச. அருள்ஜோதிசெல்வி
உதவிப் பேராசிரியர்
விலங்கியல் துறை
பெரியார் அரசு கலைக்கல்லூரி
14.08.2020

எலக்ட்ரோபோரோசிஸ்

- ஜெல் எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் (Gel Electrophoresis)
- தடைகாப்பு நிலை எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் (Immunoelectrophoresis)

எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் (Electrophoresis)

கரைப்பானில் உள்ள மின் ஏற்றம் அடைந்த கரைபொருட்கள், மின்னோட்டம் செலுத்தப்படும் பொழுது அவை கொண்டிருக்கும் மின் திறனுக்கு எதிரான மின் முனை (electrode) நோக்கி நகர்வது எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் அல்லது மின்முனைக் கவர்ச்சி எனப்படுகின்றது. மின் மற்றும் அடைந்த பொருட்கள் நகரும் வேகம் (V) கீழ் வரும் காரணிகளைச் சார்ந்திருக்கின்றது.

1. கரைபொருள் அயானின் மேல் உள்ள நிகர மின் ஏற்றத்தின் அளவு (q).

2. திரவத்தில் உள்ள மின் சரிவுவாட்டம் (E).

3. அயானின் உராய்வு குணகம் (f).

4. கரைப்பானின் இரட்டை மின் நிலை எண் (D).

5. திரவத்தின் pH அளவு.

ஒரு நிலையான மின் ஓட்டப் பரப்பில், அயான்களை நகர்த்தும் மின் சக்தி. உராயும் சக்திக்குச் சரிசமமாகி அயான்களின் இடப் பெயர்ச்சியைத் தடுக்கின்றது.

மின்னோட்ட சக்தி = உராயும் சக்தி :

எலக்ட்ரோபோரோஸ் பலவகைப்படுகிறது.

1. நகரும் எல்லை எலக்ட்ரோபோசிஸ் (Moving boundary electrophoresis)
2. காகித எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் (Paper electrophoresis)
3. ஜெல் எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் (Gel electrophoresis)
4. தடைகாப்பு நிலை எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் (Immuno electrophoresis)

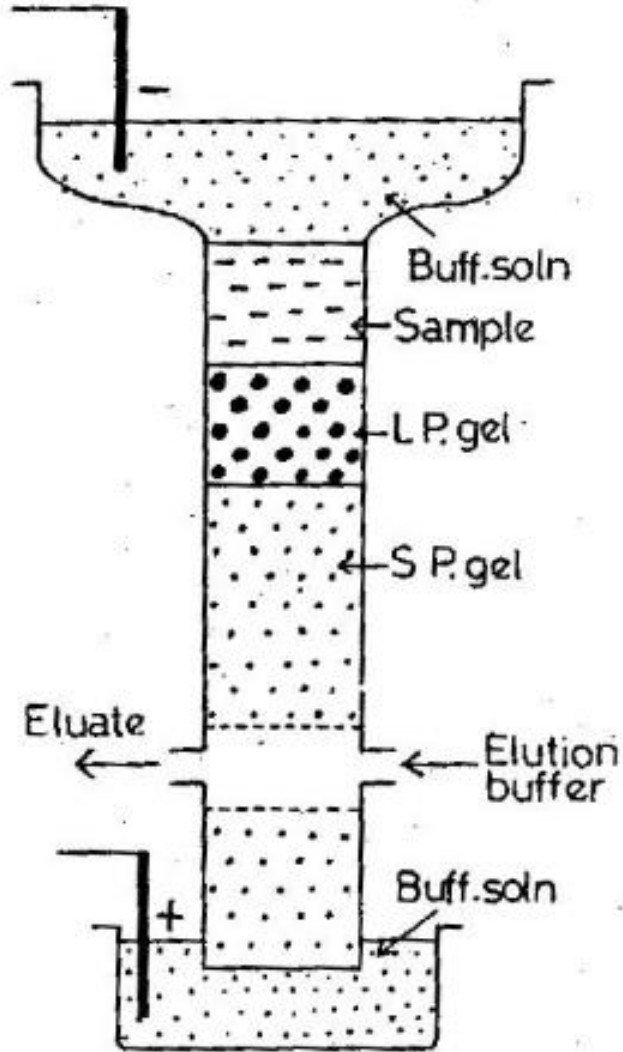
ஜெல் எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் (Gel electrophoresis)

இம்முறையில் காகிதத்திற்குப் பதிலாக பாலி அக்ரிலமைட் ஜெல் அல்லது அகாரோஸ் அல்லது ஸ்டார்ச் ஜெல் துண்டுகள் திண்ம நிலை நிறுத்தியாகப் பயன்படுத்தப்படுகின்றது.

பாலி அக்ரிலமைட் ஜெல் எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் (PAGE)

புரோட்டீன்கள், பெப்டைட்கள் மற்றும் அமைனோ அமிலங்கள் ஆகியவை மாதிரியில் மிகு நுண் அளவுகளில் (மைக்ரோ கிராம்) இருந்தால் அவற்றைப் பிரிக்க இம்முறை பயன்படுத்தப்படுகின்றது.

ஜெல் எலக்ட்ரோபோரோசிஸ்



Buff. Sol - தாங்கல் கரைசல்

Sample - மாதிரி

L.P. gel - பெரிய துளை ஜெல்

S.P. gel - சிறிய துளை ஜெல்.

Elution Bulfer - வெளியேறும் தா. கரைசல்

ஒட்டம் உருவாகின்றது. ஆன்அயான் பெரும் மூலக்கூறுகள்
ஆனோடை நோக்கி நகர்கின்றன.

ஒரு செங்குத்தான கண்ணாடிக் குழாயினுள் தேவையான அளவுகளில் நுண் துளைகள் கொண்ட ஜெல் அச்சுக்கள் உருவாக்கப்படுகின்றன. பொதுவாக பெரிய - துளை கொண்ட ஜெல் மேல் பகுதியிலும் சிறிய துளை கொண்ட ஜெல் அடிப்பகுதியிலும் இருக்குமாறு ஜெல் அச்சு உருவாக்கப்படுகின்றது.

மைக்ரோகிராம் அளவுகளில் மாதிரி எடுத்துக் கொள்ளப்படுகின்றது. இது, தாங்கல் கரைசலோடு கலந்துவிடுவதைத் தவிர்க்க, சிறிதளவு அடர்ந்த சுக்ரோஸ் அல்லது கிளிசராலோடு கலக்கப்படுகின்றது. இக்கலவை, உருவாக்கப்பட்ட ஜெல்லின் மேல் பகுதியில் வைக்கப்பட்டு அதன் மேல் தாங்கல் கரைசல் ஊற்றப்படுகின்றது. ஜெல் அச்சைக் கொண்ட கண்ணாடிக் குழாயின் அடிப்பகுதி, மேலே ஊற்றப்பட்ட அதே தாங்கல் கரைசல் நிறைந்துள்ள ஒரு கண்ணாடித் தொட்டியில் மூழ்குமாறு அமைக்கப்படுகின்றது.

மேலே உள்ள தாங்கல் கரைசல் மற்றும் கீழே உள்ள தாங்கல் கரைசல்களில் முறையே காத்தோட் மற்றும் ஆனோட்கள் பொருத்தப்படுகின்றன. இதனால் ஜெல் இருக்கும் குழாயில் மின் ஓட்டம் உருவாகின்றது. ஆன்அயான் பெரும் மூலக்கூறுகள் ஆனோடை நோக்கி நகர்கின்றன.

இம்முறையில், ஜெல் வடிகட்டுதல் முறையில் இருப்பது போல் ஜெல்லைச் சூழ்ந்து வெளிப்புறத்தில் திரவம் ஏதும் இல்லாததால் எல்லா அளவுள்ள துகள்களும் ஜெல்லில் உள்ள துளைக

ளின் வழியே ஊடுருவி நகர்ந்து வர வேண்டியதாய் இருக்கின்றன. எனவே பெரிய துகள்கள் மிக மெதுவாகவும், சிறிய துகள்கள் வேகமாகவும் ஜெல்லை ஊடுருவி வருகின்றன.

துகங்கள் நகரும் வேகம், அவற்றின் மின் ஏற்றம். மற்றும்
அடர்த்தி ஆகியவற்றின் விகிதத்தைச் சார்ந்து நடைபெறுகின்றது.
எதிர் மின் திறன் உயர்ந்த அளவிலும் மூலக்கூறு அடர்த்தியைக்
குறைந்த அளவிலும் கொண்டிருக்கும் துகங்கள் வேகமாக
ஜெல்லை ஊடுருவி கீழ் நோக்கி வருகின்றன.

மாதிரியில் உள்ள வேறுபட்ட ஆக்கக் கூறுகள் தனித்தனியான பட்டைகளாக ஜெல் அச்சில் இடப் பெயர்ச்சி செய்கின்றன. பட்டைகளாக ஜெல் துண்டின் அடிப்பகுதியை அடைந்ததும் அது குழாயிலிருந்து வெளியே எடுக்கப்பட்டு கீழ்வரும் வழிகளில் ஆராயப்படுகின்றது.

1. புரோட்டீன்கள்; கோமாசி நீலம், வெள்ளிச் சாயம் அல்லது ஒளிரும் சாயங்கள் கொண்டு நிறமேற்றப்பட்டு ஆராயப்படுகின்றன.

2. வேறுபட்ட pH அளவுகள் மற்றும் அயான் செறிவுகள் கொண்ட தாங்கல் கரைசல்கள் கொண்டு ஒவ்வொரு பட்டையின் ஆக்கக் கூறுகளும் தனித்தனியாகப் பிரித்தெடுக்கப்பட்டு ஆராயப்படுகின்றன.

3. கூர்ந்து ஆராயும் ஸ்பெக்ட்ரோபோட்டோமீட்டரில் இப்பட்டைகளின் செறிவு அளக்கப்பட்டு அறியப்படுகின்றது.

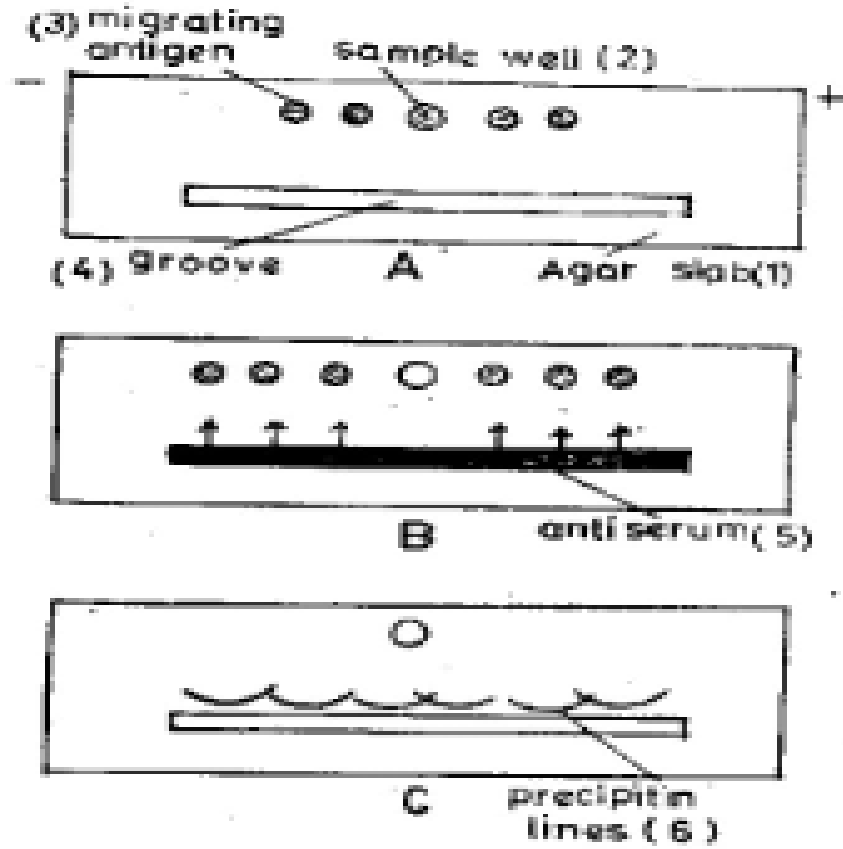
4. கதிரியக்க ஐசோடோப்புகள் கலக்கப்பட்ட மாதிரிகள் கொண்ட ஜெல் துண்டுகள் ஆட்டோரெடியோகிராபி முறையில் ஆராயப்படுகின்றன.

இம்யூனோ எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் (Immuno electrophoresis)

இம்முறை; எதிர்ப் பொருள் (Antigenic) புரோட்டீன்களின் மின் முனைக் கவர்ச்சி இயக்கங்களை, தனிப்பட்ட எதிர் வினைப் பொருளோடு (antibody) அவை வீழ்படிவாகும் - செயலுடன் இணைத்து அவற்றின் ஆக்கக் கூறுகளைப் பிரிக்கின்றது.

செய்முறை - ஒரு அகார் ஜெல் பாளம் எடுத்துக் கொள்ளப்பட்டு அதன் மையப்பகுதியில் உள்ள குழியினுள் (well) மாதிரி வைக்கப்படுகின்றது. பின் 3.3 வேல்ட் மின் ஓட்டம் செலுத்தப்பட்டு 30 முதல் 60 நிமிடங்கள் மின் முனைக் கவர்ச்சி இயக்கம் நடைபெற அனுமதிக்கப்படுகின்றது. இதனால் எதிர்ப்பொருளின் வேறுபட்ட புரோட்டீன்கள் வேறுபட்ட தூரங்களில் அகார் பாளத்தில் நகர்கின்றன.

பின், அகார் பாளத்தில் நீள்வசமாக அமைந்துள்ள வரிப் பள்ளத்தில் எதிர்வினைப் பொருள் (antibody) கொண்ட இம்யூன் அல்லது ஆன்டிசீரம் ஊற்றப்படுகின்றது. இவ் வரிப்பள்ளம், இடப்பெயர்ச்சி செய்து பல இடங்களில் அமைந்துள்ள புரோட்டீன்களுக்கு இணையாக அமைந்திருக்கின்றது. இதனையடுத்து



படம் 109 - இம்யூனோ டைக்ரோபேரோசிஸ்

1. அகாரி பானம்
2. மாஇரி வைக்கப்பட்ட இன்ன பன்மை
3. தகரும் ஆன்டிசென்
4. ஆன்டிசென் வைக்கப்பட்ட இன்ன பன்மை
5. தகரும் ஆன்டிசென்
6. வீழ்படிவு வரிகள்

எதிர்ப்பொருள் மற்றும் எதிர்வினைப் பொருள் ஆகியவை 18 முதல் 24 மணி நேரம் அகார் பாளத்தில் ஊடுருவிப் பரவ அனுமதிக்கப்படுகின்றன. இவ் ஊடுருவிச் செல்லும் செயலின் போது எதிர்வினைப் பொருட்கள் எதிர்ப் பொருட்களோடு வினையாற்றி அவற்றை வீழ்படிவுகளாக மாற்றிவிடுகின்றன. இதனால் இடப் பெயர்ச்சி செய்யும் எதிர்ப் பொருட்களின் புரோட்டீன் வகைகள் தனித்தனியாக வீழ்படிவு வரிகளாக ஜெல் பாளத்தில் அமைகின்றன. பின் இவ்வரிகள் நிறமேற்றப்பட்டு இனங் கண்டறியப்படுகின்றன.