

சுழற்பிரிமானம் (Centrifugation)

முன்னுரை

உயிரிய வல்லுநர்களுக்கு சிறு பொருட்களை தனிமைப்படுத்தும் நுட்பங்களுக்கு மிகவும் பயனுள்ளதாக சுழற்பிரிமானம் எனும் சாதனம் உள்ளது. பெரும் மூலக்கூறுகளின் இயற்பியல் பண்புகளை ஆய்வு செய்வதற்கு சுழற்பிரிமானம் சிறந்த நுட்பமாக உதவுகிறது. சுழலும் அச்சிலிருந்து புறம்நோக்குத் திசையில் துகள்கள் துரிதமாக இடப்பெயர்வுக்கு சுழற்பிரிமான விசை (centrifugal force) உதவுகிறது. சுழற்சியின் வேகம் துரிதமானால் அதற்கேற்ப விசையும் அதிகரிக்கும். சுழற்சி என்பது கோணத் திசைவேகம் அல்லது (rpm) (revolution per minute) மூலம் அளவிடப்படுகிறது.

சுழற்பிரிமான விசை = (கோணதிசைவேகம்)² X ஆரம் (radius)

கோண திசைவேகம் rpmவுடன் தொடர்புடையது. இதனைக் கீழ்க்கண்டவாறு கணக்கிடலாம்.

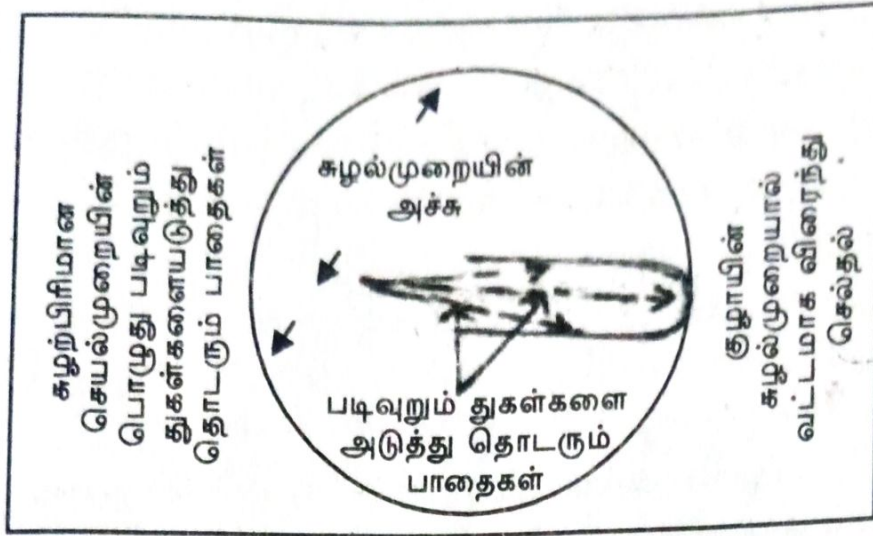
$$\text{கோணதிசைவேகம் (Angular velocity)} = \frac{2\pi \times \text{rpm}}{60} \quad \text{ஆரம் தலா ஒரு நொடி,}$$

சுழற்பிரிமான விசை என்பதை பொதுவாக RCF எனக் குறிக்கலாம். சுழற்பிரிமான விசை. இதனை கிராம் (g) அலகுகளில் வெளிப்படுத்தலாம்.

$$\text{ஒப்பீட்டு சுழற்பிரிமான விசை} = \frac{4\pi \times (\text{rpm})^2 r}{3600 \times 980} \quad \text{கி. அலகுகள் (g units)}$$

துகள்கள் அடியே படியும் நிகழ்வைத் தழுவினதாக சுழற்பிரிமான நெறிமுறை (principle) உள்ளது. ஈர்ப்பு விசையின் காரணமாக துகள்களின், அடர்வு, உருவளவு ஆகியன

படிவியலாக்க வீதத்திற்கு (rate of sedimentation) முக்கியக் காரணமாக உள்ளன.



சுழற்பிரிமானத்தில் பயன்படுத்தப்படும் சொல் தொகுதி குறித்து எழுதுக.

(Write a note on terminology used in centrifugation)

ஒரு சுழற்பிரிமானப் விசையில் துகள்கள் அல்லது கரைமங்களின் இயக்கம், படிவியலாக்கம் எனப்படுகிறது. இவ்வியக்கத்தின் வீதத்தை / திசைவேகத்தை (velocity) படிவியலாக்க வீதம் என அழைப்பர். கலனின் அடியே படியும் துகள்களை/ கூறுகள் குறுமணிகள் (pellets) அல்லது மீதிமிச்சங்கள் (residues) என அழைக்கப்படுகின்றன. குறுமணிகளுக்கு மேலாக அமையும் அடுக்கு கரைசலின் தளமிதப்பு (supernatant) என அழைப்பர்.

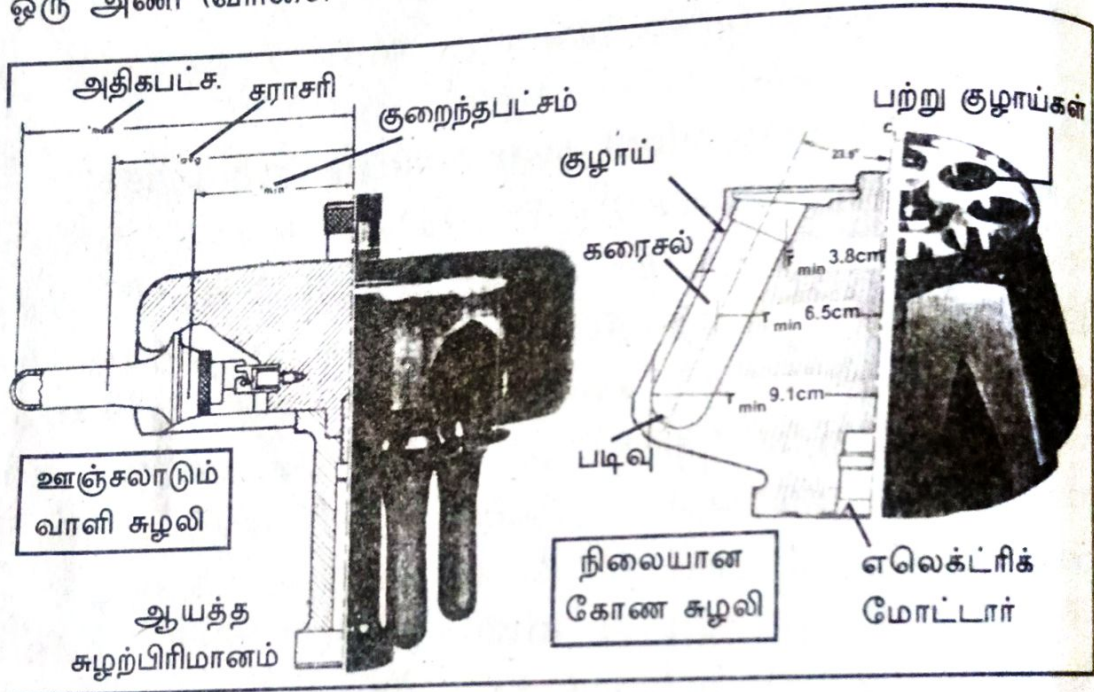
(Explain the principles involved in centrifugation. Describe the various types of centrifuges and their uses)

பல்வேறு உருவளவு மற்றும் அடர்வு கொண்ட துகள்களின் கரைசலுடன் குழல் (tube) நிரப்பப்பட்டிருப்பின் ஈர்ப்புவிசை விளைவால் அக்குழலின் அடிமட்டத்தில் அத்துகள்கள் அடுத்தடுத்து படிப்படியாக படிவுறும் துகள்கள் மீது ஈர்ப்புவிசை வேகத்தை அதிகப்படுத்தினால் படிவு வீதம் படிப்படியாக அதிகரிக்கக்கூடும். சுழற்பிரிமானத்தைப் பயன்படுத்திய பின்னால் இப்படிவு பங்கிடத்தக்கதாக இருக்கும். ஒரு சுழற்பிரிமானத்தின் சுழலியில் (rotor) செல் ஒருபடித்தரம் (homogenate) அடங்கிய குழாயினை வைக்கப்படுகிறது. இதன்பின் இச்சுழலியை வெகுவேகத்தில் சுழலவிடப்படுகிறது. அந்தரமயமாக (suspended) உள்ள

துகள்களின் மீது செயல்படும் விசையினை, முடுக்கம் (acceleration) அதிகளவில் மிகுதிப்படுத்துகிறது. குழாயின் அடிமட்டத்தில் துரிதமாக படிவதற்கு இம்முடுக்கமே காரணமாகிறது. சுழற்பிரிமானத்தின் வெவ்வேறு வகைகள் கீழே விளக்கப்பட்டுள்ளன.

1) ஆயத்த சுழற்பிரிமானம் (preparative centrifugation)

செல் அங்கங்களின் தனிமைப்பாட்டிற்கு இந்நுட்பம் உதவுகிறது. இந்நுட்பத்திற்கு இருவகை சுழலிகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. அவைகளான 1) அலையாடும் / அசைவாடும் / ஊஞ்சலாடும் - வாளி சுழலி (swinging bucket rotor) 3) நிலையான - கோண சுழலி (Fixed - angle rotor) சுழலியின் மையக் கலணையுடன் (harness) உலோக வாளிகளின் ஒரு அணி (வரிசை)

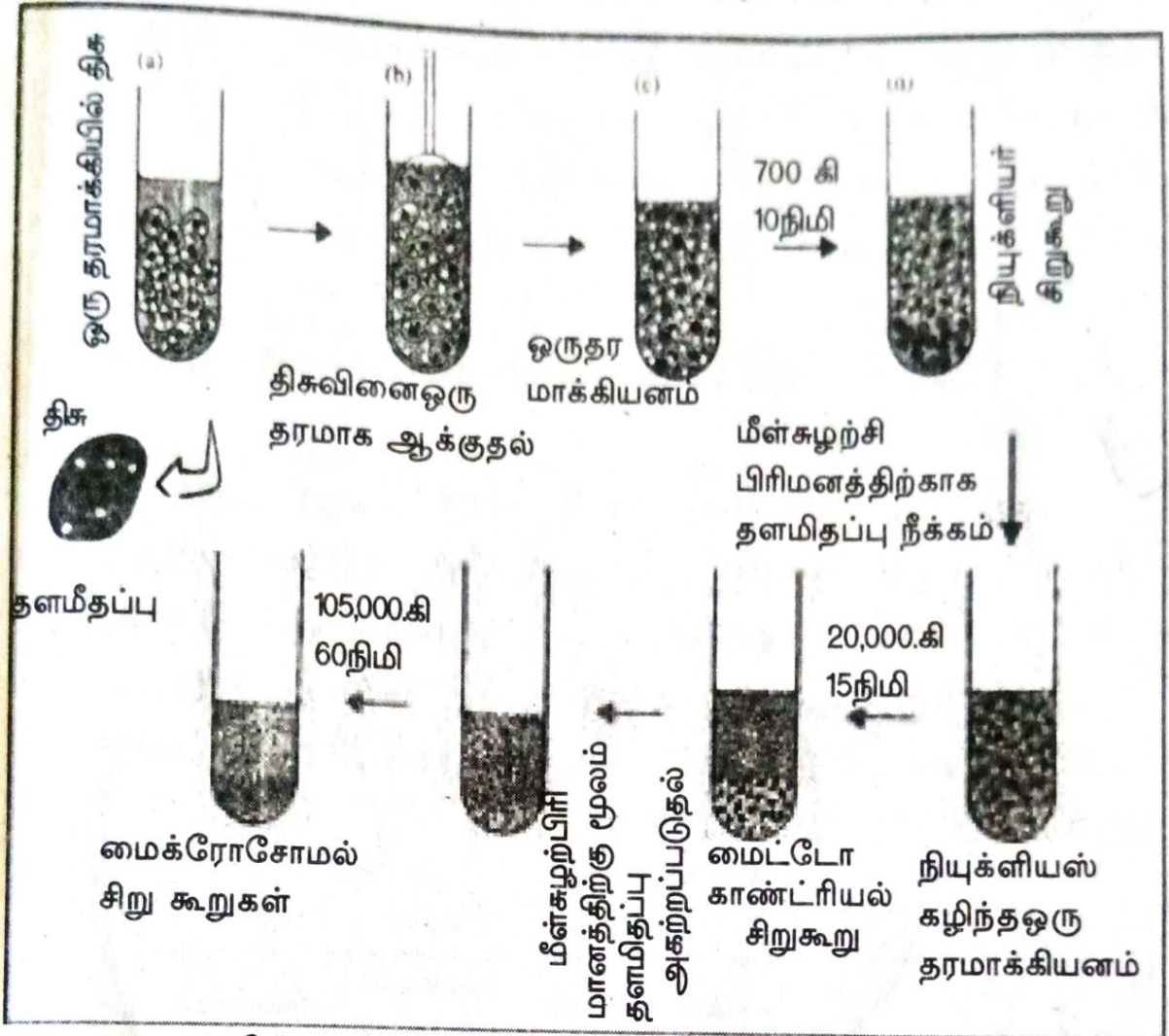


இணைக்கப்பட்டுள்ளது. சுழலியின் முடுக்கத்தின் பொழுது கிடைமட்ட நிலையமைவில் இந்த வாளி அசைவாடுகிறது. வேகந்தணியும் (deceleration) பொழுது நேர்வான நிலை அமைவுக்கு இவ்வாளிகள் திரும்புகின்றன. 4) நிலையான கோண சுழலியில், நிலைப்பாடான கோணத்தில் சுழற்பிரிமானம் முழுதும் இக்குழாய்கள் நிலைநிறுத்தப்படுகின்றன.

2) வேறுபாட்டுச் சுழற்பிரிமானம் (Differential centrifugation)

நோபில் லாரியேட், ஆல்பெர்ட் கிளாடு ஆகியோர் 1940ல் இந்நுட்பத்தை அறிமுகப்படுத்தினர். ஒரு கரைசலில் உள்ள துகள்கள்

அவற்றின் உருவளவு, வடிவம், அடர்வு ஆகியவற்றின் அடிப்படையில் படிகின்றன. இம்முறையில், செல் உட்துகள்கள் படியவைக்கப்படுவதுடன் அடுத்தடுத்த விசை அதிகரிப்பதால் ஒன்றன்பின் ஒன்றாக இத்துகள்கள் அகற்றப்படுகின்றன.



ஒரு கலவையில் உள்ள கரைசல் குறைந்த வேகத்தில் முதலில் சுழற்பிரிமானம் செய்யப்படுகிறது. பெரிய உருவளவுத் துகள்கள் அடியே படிகின்றன. இதன் மீதுள்ள தளமிதப்பு, (supernatant) இன்னொரு குழாய்க்கு மாற்றப்படுகிறது. பின்பு இதனையும் வெகுவேகத்தில் வெகுநேரம் சுழற்பிரிமானம் செய்யப்படுகிறது. இதிலுள்ள சிறிய துகள்கள் அடியே மண்டிவிடுவதைக் காணமுடியும். இச்செயல்முறையை பல தடவை திரும்பத் திரும்பச் செய்வதால் அனைத்து துகள்களும் படிந்து விடுகின்றன. எடுத்துக்காட்டாக, ஈரல் திசுவின் செல் உட்துகள்களின் தனிமைப்பாடு கீழே கொடுக்கப்பட்டுள்ளது.

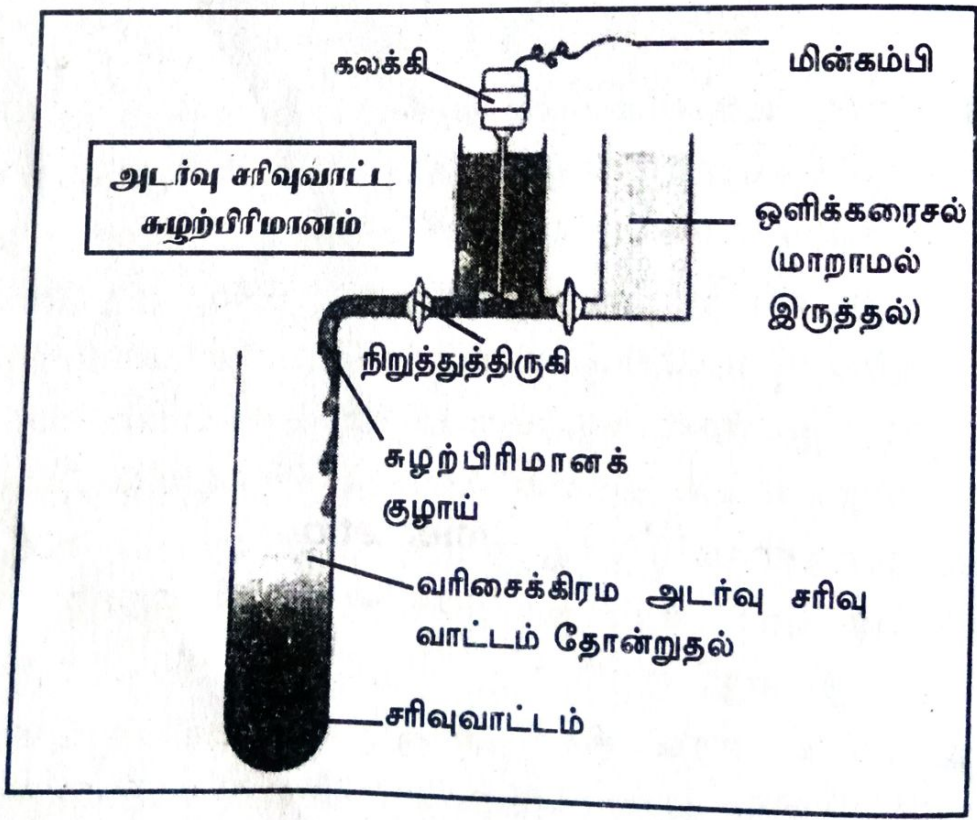
இதற்காக, ஈரல் திசு ஒரு படித்தரமாக்கப்படுகிறது. (homogenized) இந்த ஒருபடித்தரத்தினை 700கில் 10 நிமிடங்களுக்கு சுழற்பிரிமான மாக்கப்படுகிறது. மண்டிப்போன நியுக்ளியஸ்கள்,

நியூக்ளியர் சிறுகூறுகளாக (fractions) உருவெடுக்கின்றன. இதிலுள்ள தளமிதப்பு இன்னொரு குழாய்க்கு மாற்றப்பட்டு 20,000-இல் 15 நிமிடங்களுக்கு சுழற்பிரிமானம் செய்யப்படுகிறது. இப்பொழுது, மைட்டோகாண்ட்ரியங்கள் படிவுற்று மைட்டோகாண்ட்ரியங்கள் சிறுகூறுகளாக (fractions) உருவெடுக்கின்றன. இதிலுள்ள தளமிதப்பு இன்னொரு குழாய்க்கு மாற்றப்பட்டு 105,000-இல் 60 நிமிடங்களுக்கு சுழற்பிரிமானமாக்கப்படுகிறது. இப்பொழுது, மைக்ரோசோம்கள் படிவுற்று மைக்ரோசோமல் சிறுகூறுகளாக உண்டாகின்றன.

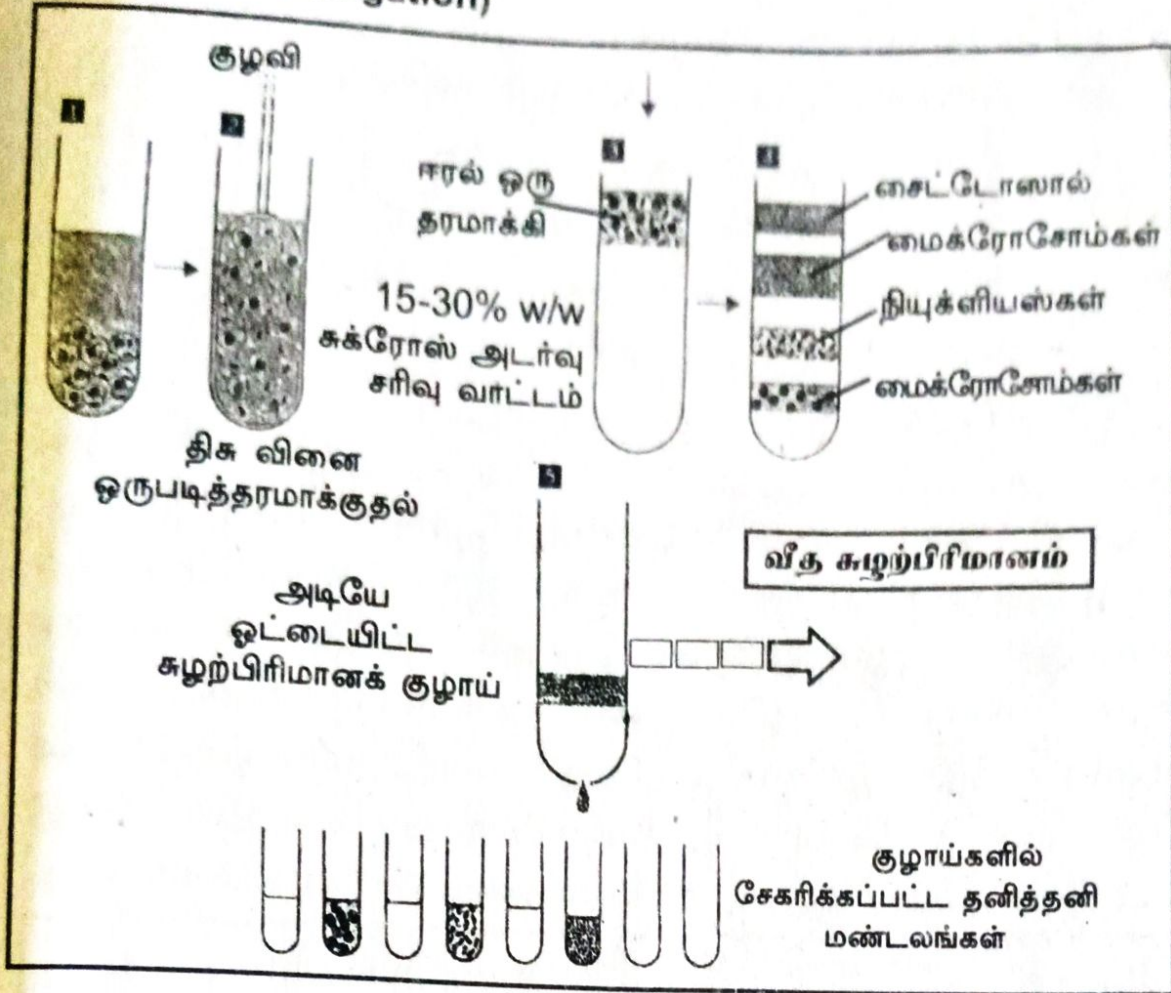
3) அடர்வு சரிவுவாட்ட சுழற்பிரிமானம் (Density gradient centrifugation)

N.G ஆண்டெர்சன், M.K ப்ரேக்கி ஆகியோர் 1950ல் செல்லியல் ஆய்வுக்காக இந்நுட்பத்தை அறிமுகப்படுத்தினர். அடர்வு சரிவுவாட்ட சுழற்பிரிமானம் இருவகைகளில் உள்ளது.

1. தொடர்வற்ற (படிப்படியான) அடர்வு சரிவுவாட்ட சுழற்பிரிமானம் (discontinuous stepwise density gradients centrifugation)



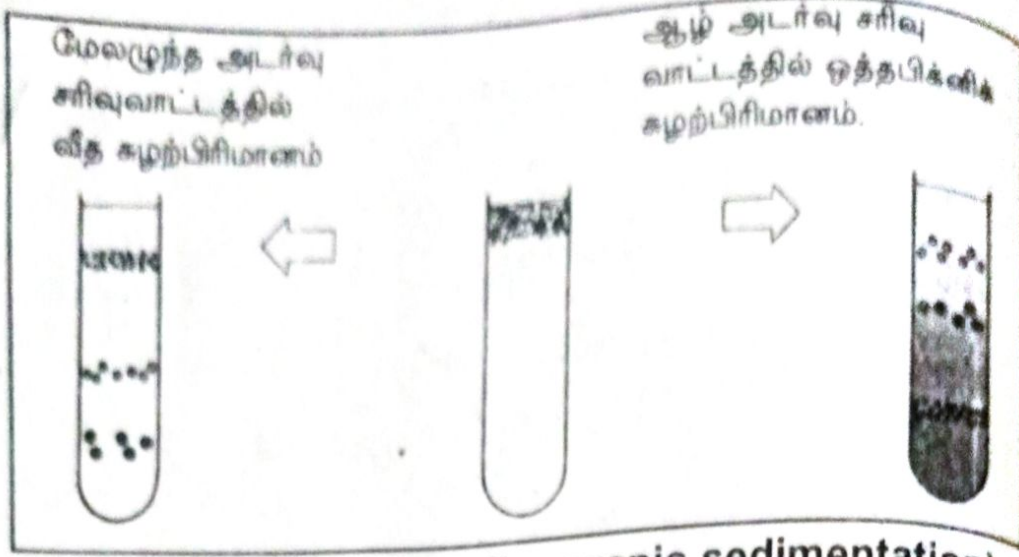
மண்டலவரிசை படிவாக்கம்
(Zonal centrifugation)



2. தொடர் அடர்வு சரிவு வாட்ட சுழற்பிரிமானம். தொடர்வற்ற வகையில் அடர்வு குறையும் கரைசலின் அடுக்குகள் ஒன்றன்மீது ஒன்று அமைந்துள்ளன. தொடர்வு வகையில், அடர்வும் இலேசானதுமான கரைசல்கள் கட்டுப்பாட்டு வீதத்தில் கலவையாகியுள்ளன. தொடர் ஒழுகளினுள்ளே (stream) ஒரு குழாயில் கலவை கொள்விக்கப்படுகிறது (fed). கீழ்க்கண்ட படத்தின் மூலம் தொடர் அடர்வு சரிவு வாட்ட கரைசல் தயாரிக்கும் முறை விளக்கப்படுகிறது. அடர்ச்சரிவுவாட்ட சுழற்பிரிமானம் பெரும் தெளிவாக்கத்தை (resolution) நிறைவேற்றுகிறது.

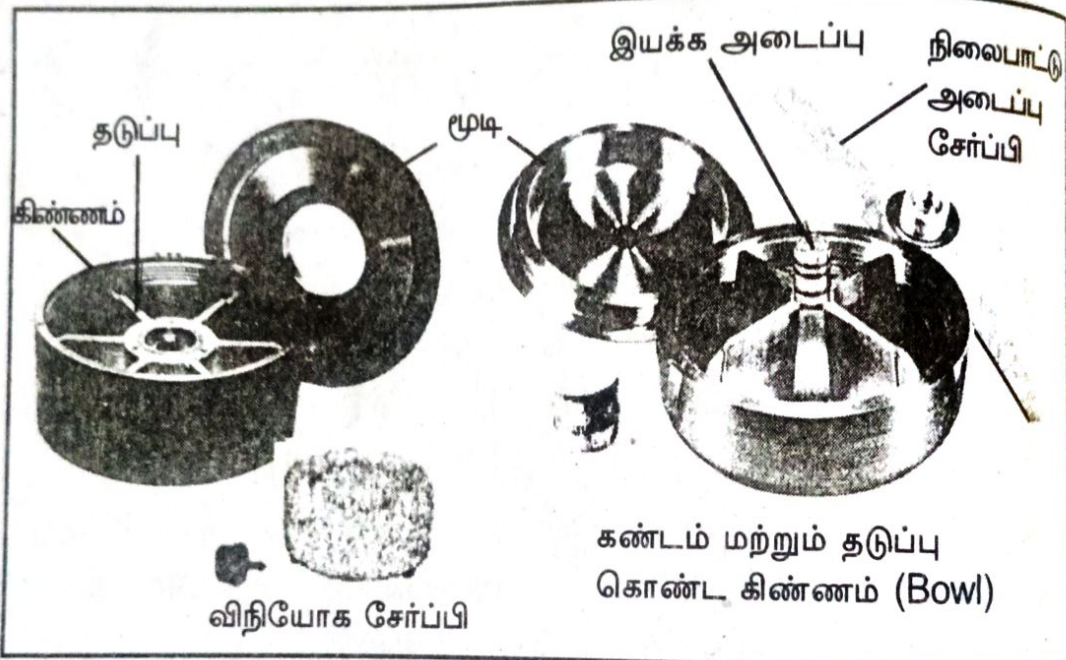
4) வீத சுழற்பிரிமானம் (Rate sedimentation)

ஒரு அடர்வு சரிவுவாட்ட கரைசலில் சுழற்பிரிமானக் கால அளவு கவனமாக வரையறுக்கப்பட்டிருந்தால், படிவு குணக ஒழுங்கினுள் துகள்கள் பரவக்கூடும். இம்முறை மூலம் தனிமைப்படுத்துவதைவீத படிவாக்கம் என அழைப்பர். கீழ்க்கண்ட படம் இம்முறையை தெளிவாக விளக்குகிறது.



5) ஒத்தபிக்னிக் படிவாக்கம் (Isopycnic sedimentation)

வீத தனிமபாட்டில் துகள்களின் உருவளவும், அடர்வும் சரிவுவாட்டத் துகள்களின் இறுதிநிலை அமைவுகளைத் தீர்மானிக்கின்றன. ஐசோபிக்னிக் தனிமைப்பாட்டில், அடர்வு சரிவுவாட்டத்தில் துகள்களின் இறுதிநிலை அமைவுகளை துகள் அடர்வு தன்னந் தனியாகத் தீர்மானிக்கிறது. ஆகவே, வெகு அடர்வுடன் கூடிய பெருமத் துகள்கள் அதன் மேலே அமைகின்றன.



6) மண்டலவரிசை படிவாக்கம் (Zonal centrifugation)

மண்டல வரிசை சுழலிகள் அதிகளவு மாதிரிகளில் உள்ள மூலக்கூறுகளை தனிமைப்படுத்துவதற்குப் பயன்படுகின்றன. இந்த மண்டல வரிசை படிவாக்கத்தில் பெரிய உருளை வடிவ அறை, பல உருளைக்கூறு வடிவ சிற்றறைகளாக பிரிக்கப்பட்டுள்ளது. ஒவ்வொரு சிற்றறையும் இரண்டு லிட்டர் மாதிரிகளை கொள்விக்கும் திறன் வாய்ந்தது.



வண்ணவரைகலை (chromatography)

தாள் வண்ண வரைகலையியல்

(Paper chromatography, PPC)

ரஷ்யா நாட்டு இரு விஞ்ஞானிகளான இஸ்மய்லொவ், ஸ்க்ரெய்பெர் (1938) ஆகியோர் இந்நுட்பத்தை அறிமுகப்படுத்தினர். வண்ணவரைகலை (Chromatography)

Chromatography என்பது கிரேக்கச் சொல் இது Chroma - Colour - நிறம், Graphein = to write -1 வரைகலை என்ற பொருள் தருகிறது. மைக்கெல் செமனவிச் ட்ஸ்வெட் (1872-1919) என்ற ரஷ்ய விஞ்ஞானி இந்நுட்பத்தை முதன்முதலாக வெளிப்படுத்தினார். குளோரோபில்கள், ஷாந்தோபில்கள் போன்ற வெவ்வேறு நிறங்கொண்ட நிறமிகளை இவர் கையாண்ட நுட்பத்தின் மூலம் பிரித்துக்காட்டினார். பெட்ரோலியம் ஈத்தெர் குளோரோபில் சாரத்தில் உள்ள நிறமிகளின் பச்சை மற்றும் மஞ்சள் வண்ணப் பகுதிகளாகப் பிரிப்பதற்கு CaCO_3 ன் பத்தியை (Column) இவர் பயன்படுத்தி வெவ்வேறு பகுதிக் கூறுகளாகத் தனிமைப்படுத்திக் காட்டினார். இவ்விதமாக பிரிப்பதற்கு பயன்படுத்தப்படும் கருவியை இவர் வண்ணவரை கலைமானி (Chromatogram) என அழைத்தார். இதன் செயல் முறையினை வண்ண வரைகலையியல் என்று பெயரிட்டார்.

கலக்க முடியாத இருநிலைகள் (அதாவது பொருளின் ஒப்பீட்டு தரைபகுத்தன்மையில்) பொருட்களின் பிரிவினைக் குணகத்தின் கீழான பிரகாரம் பொருட்களைத் தனிமைப்படுத்தப்படும். நுட்பத்திற்கு வண்ண வரைகலையியல் என்று பெயர். இம்முறையில் ஒரு கலவையில் உள்ள அங்கங்களின் தனிமைப்பாடு, ஒரு நிலைப்பாடு அல்லது நிலைப்பாடான (fixed or stationary) நிலையிலும் (திட்பொருள் அல்லது திரவப்பொருள் போன்றது) இயக்கம் அல்லது இடம் நகரும் நிலையில் (திரவம் அல்லது வாயு போன்றது) இவற்றின் வெவ்வேறு கரைபடும் திறன் பணியாக உள்ளது.

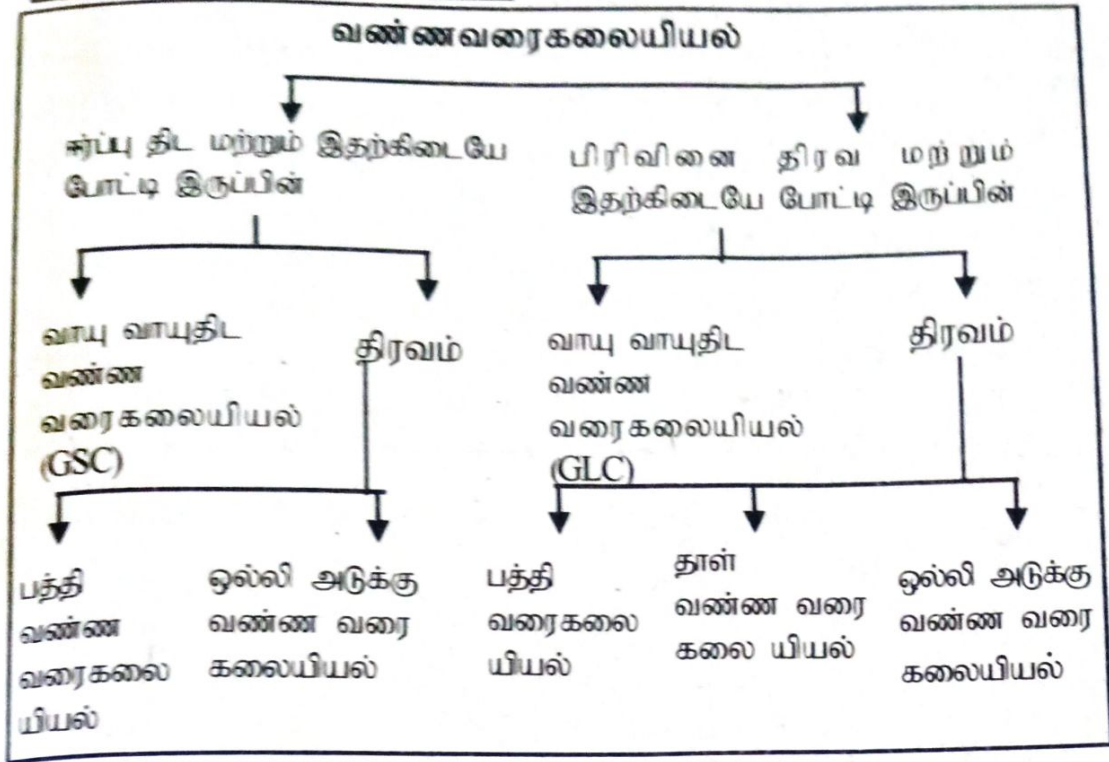
வண்ணவரைகலையியலின் வெவ்வேறு வகைகளாவன

Summary

1. பிரிவினைப் பத்தி வரைகலையியல்
சிலிகா செல், செல்லுலோஸ் போன்ற வெகு புறப்பரப்பு பகுதியின் துளைதிடப்பொருளுடன் பத்தி அடைக்கப்பட்டுள்ளது. இப்பகுதி நீரால் (நிலைபாட்டு நிலை) பூச்சி இடப்பட்டுள்ளது. கலவையின் பகுதிக்கூறுகள், பத்தி வழியே கரிமக் கரைப்பானால் (இயங்குநிலை) தனிமைப் படுத்தப்படுகின்றன.
2. தாள் வண்ண வரைகலையியல்
செல்லுலோஸ் பிணைவுற்ற வடிதாள் மீது சிறிய ஒரு புள்ளியாக கரைவற்ற பொருட்கள் இடப்படுகின்றன. தாள் (நிலைபாட்டு) மற்றும் கரிமக் கரைப்பான் (இயங்குநிலை) இடையே இக்கலவைகள் பிரிவினையாக்கப்படுகின்றன.
3. ஒல்லியடுக்கு வண்ணவரைகலையியல்
ஒரு கண்ணாடித் தட்டில் சீரான தடிமனில் ஒல்லியான படலமாக உறிஞ்சு (நிலைப்பாட்டு நிலை) பரப்பப்படுகிறது. தந்துகி செயல்பாடு மூலமாக கரைப்பான் (இயங்கு நிலை) மேல்நோக்கி நகர்ந்து பிரிவினையை ஏற்படுத்துகிறது.
4. அயனிப்பரிமாற்ற வண்ண வரைகலையியல்
அயனியாகிய கூட்டுப்பொருட்களுக்கான நாட்டத்தில் அயனிக்கூட்டுப் பொருட்கள் வேறுபாடுகளின் பயனாக நீர்தோய்ந்த கரைசலில் (இயங்கு நிலை) அயனிக் கூட்டுப் பொருட்கள் தனிமைப்படுத்தப்படுகின்றன. இக்கூட்டுப்பொருட்கள் கரையா திடநிலையின் (நிலைப்பாட்டு நிலை) ஒரு ஒருமைப்பாட்டு பாகமாக உள்ளன.
5. வாயு திரவ வண்ணவரைகலையியல்
நிலைப்பாடான நிலையாக எளிதில் ஆவியாகா திரவம் பூசிய ஒல்லி அடுக்குடன் துளை ஜடத்திடப்பொருள் பத்தியில் அடைக்கப்படுகிறது. கலவையின் அங்கங்கள் இந்நிலையில் வாயு (இயங்கு நிலைக்கும்) இடையே பிரிவினையாக்கப்படுவதன் மூலம் தனிமைப்படுத்தப்படுகின்றன.
6. ஈர்ப்புப் பத்தி வண்ண வரைகலையியல்
அலுமினா, சிலிகா ஜெல் (நிலைபாட்டு நிலை) போன்ற செயலூக்கும் திடப்பொருளில், அங்கங்களின் வெவ்வேறு ஈர்ப்பால் கலவையின் பரிமாணம் தீர்மானிக்கப்படுகிறது. இந்த நிலைப்பாட்டு பொருட்கள் அடங்கிய கரிமக் கரைப்பான் (இயங்குநிலை) கடந்து பிரிவினையைத் தூண்டுகிறது.

த
உ
ப
இ
ப
உ
எ
எ
எ
1.
p
த
அ
கு
(r

Flowchart of Classification



தாள் வண்ண வரைகலையியல்

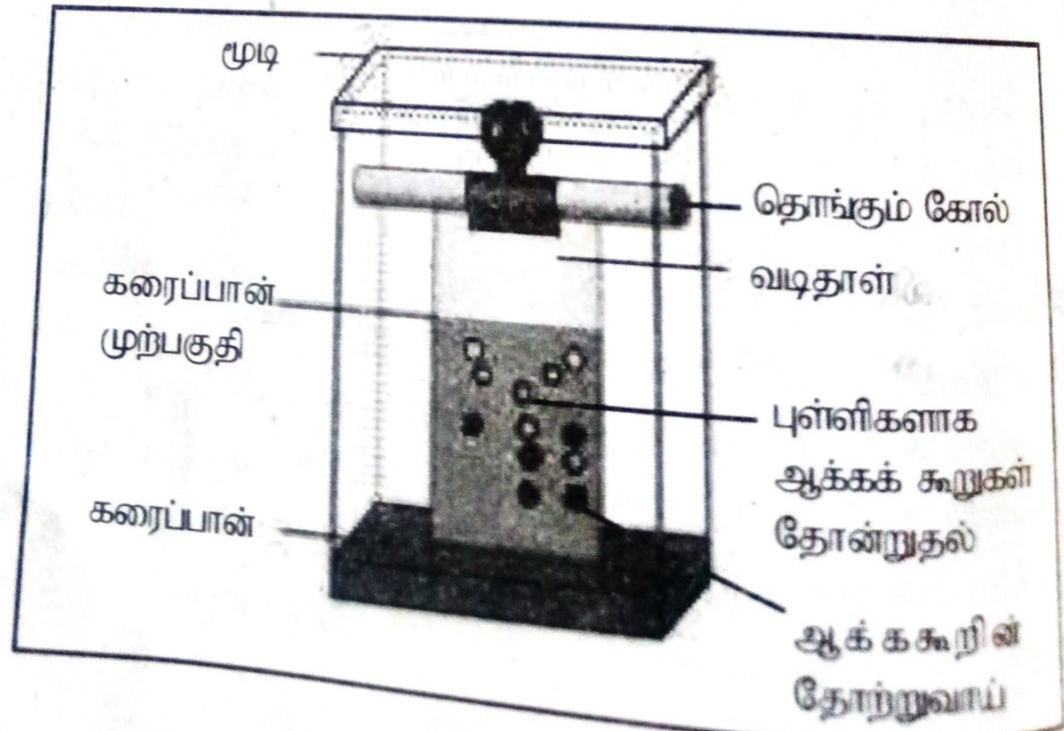
தாள் வண்ணவரைகலை என்பது ஒரு உயிர்வேதி நுட்பம் ஆகும். இந்நுட்பம் அமினோ அமிலங்களைத் தனிமைப்படுத்துவதற்கு உதவுகிறது. வண்ணவரைகலை என்பது நிறங்களில் எழுதுதல் (Write in colour) என்ற பொருளைக் குறிக்கிறது. உண்மையிலேயே இம்முறை நிறமுள்ள பொருட்களைத் தனிமைப்படுத்துவதற்கு பயன்படுகிறது. இம்முறையினை ட்ஸ்வெட் என்ற வல்லுநர் 1906 தோற்றுவித்தார். இது ஒரு பிரிவினை வண்ணவரைகலை ஆகும்.

நிறம் பிரிக்கும் செயல்முறை, வண்ணவரைகலை என அழைக்கப்படுகிறது. இந்நிறப்பிரிவினை தயாரிப்புக்கு குரோமடோக்ராம் என்று பெயர். தனிமைப்படுத்த வேண்டிய கலவை, கரைவம் (Solute) என அழைக்கப்படுகிறது. தாள் வண்ண வரைகலையில், அமினோ அமிலங்களைப் பிரிப்பதற்கு இருநிலைகள் பயன்படுகின்றன. 1. இயங்கா நிலை (Stationary phase) 2. இயங்கும் நிலை (Mobile phase) தாள் வண்ணவரைகலையில் இவ்விரு வகை நிலைகளும் திரவங்களாக உள்ளன. இவ்விரு திரவங்களுக்கு இடையே அமினோ அமிலங்கள் தனித்துப் பிரிக்கப்படுகின்றன. இங்கு வாட்மேன் வடிதாள் (meshes) இருக்கும் திரவம், இயங்கா (இடம்பெயரா) நிலையாகப்

பணிபுரிகிறது. அறையில் உள்ள கரைப்பான் (Solvent) இயங்கும் நிலையாகப் பணிபுரிகிறது. வண்ண வரைகலை உபகரணத்தின் செவ்வகச் ஜாடி, முடி, வாட்மேன் வடிதாள் ஆகியன உள்ளன. சுமார் 2செ.மீ. உயரத்திற்கு ஜாடியினுள் கரைப்பான் ஊற்றப்படுகிறது. இந்த ஜாடியினுள் நேர்வாக ஒரு செவ்வக வடிதாளின் ஒரு துண்டம் தொபக விடப்படுகிறது. இத்தாள் துண்டத்தின் முனை கரைப்பானில் முழுகி இருக்குமாறு அமைவிக்க வேண்டும். கரைப்பானின் பரப்பரப்புக்கு மேலாக, வடிதாளின் அடிமுனைபுறம் தனிமைப்படுத்த வேண்டிய கலவை (mixture) புள்ளியாக வைக்கப்படுகிறது. இதுவே தோற்றுவாய் (origin) அழைக்கப்படுகிறது.

இப்பொழுது கரைப்பான் மேல் நோக்கி நகர்கிறது. இக்கரைப்பானுடன் கலவையின் ஆக்கக் கூறுகளும் கொண்ட செலுத்தப்படுகின்றன. வடிதாளின் குறிப்பிட்ட தொலைவுக்கு கரைப்பான் வெவ்வேறு வேகங்களில் ஆக்கக் கூறுகள் பெயரும் திறன் கொண்டவை. இந்த இடப்பெயர்வை நிறுத்திய பின்னரும் ஆக்கக்கூறின் கலவையைத் தாண்டி கரைப்பான் உயரக் கூடும். வடிதாளின் மேல் விளிம்பு அருகே கரைப்பான் அடையும் பொழுது ஓட்டம் (Run) நிறுத்தப்படுகிறது.

வடிதாளின் பட்டை அகற்றப்பட்டு கரைப்பானின் அமைவு அறியப்படுகிறது. இப்பகுதியை கரைப்பான் முற்பகுதி (Solvent front) என அழைப்பர். இவ்வடிதாள் உலர்த்திய பின்னர் நின்னெட்டி என்ற சாயம் ஏற்றப்படுகிறது. ஆக்கக் கூறுகள் வெவ்வேறு இலக்குகளில் இருப்பிடங்கள் ஆக்கிக்கொண்டதை அறிய முடியும். ஆக்கக் கூறுகளின் Rf மூலமாக தனிப்பட்ட ஆக்கக் கூறுகள் அறியப்படுகின்றன.



Rf என்பது Resoution front/ Retention front என்று அழைக்கப்படுகிறது. Rf மதிப்பு இடம்பெயரும் வேகத்தைப் பொறுத்தது. புள்ளிவைக்கப்பட்ட (தோற்ற) இலக்கிலிருந்து கரைப்பான் முற்பகுதியின் தொலைவின் விகிதமாக இந்த Rf விளக்கப்படுகிறது.

தோற்ற இலக்கிலிருந்து
புள்ளிநகர்ந்த தூரம்
Rf மதிப்பு _____
தோற்ற இலக்கிலிருந்து கரைப்பான்
முற்பகுதி நகர்ந்த தூரம்

குரோமடோக்ராம்

தாளில் அடுத்தடுத்து காணப்படும் வண்ணவண்ண ஆக்கக்கூறுகள் தனித்து பிரிந்தொதுங்கிய ஆக்கக் கூறுகளின் (Components) வகைகளாகும். இவையே குரோமட்டோக்ராம் என அழைக்கப்படுகின்றன.

**வண்ணவரைகலையியல் என்பதை விளக்குக
(Define Chromotography)**

மூலக்கூறுகளின் ஒரு கரைசலில் உள்ள மூலக்கூறுகளை தனிமைப்படுத்துவதில் வண்ணவரைகலை நுட்பங்கள் உதவுகின்றன. வடிவம், உருவளவு, பொருண்மை, செலுத்தம் (charge) கரைதிறன் மற்றும் மூலக்கூறுகளின் ஒட்டீர்ப்பு ஆகியவற்றின் வேறுபாட்டைப் பொறுத்து இத்தனிமைப்பாடு சாத்தியமாகிறது. வண்ணவரைகலை (chromatography) என்ற சொல் கிரேக்கச் சொல்லிலிருந்து தோன்றியதாகும். இதன் பொருள் நிற குறியெழுத்து (coloured writing) என்பதாகும். டீஸ்வெட் என்ற ரஷ்யா தாவரவியல் வல்லுநர் இச்சொல்லினை முதன்முதலின் பயன்படுத்தினார்.

வண்ணவரைகலையியல் வகைகள் யாவை?

what are the types of chromatography?

1. பத்தி வரைகலையியல் - Column chromatography
2. தாள் வரைகலையியல் - Paper chromatography

3. ஒல்லி அடுக்கு வரைகலையியல் - thin layer chromatography

4. வாயு திரவ வரைகலையியல் - gas liquified chromatography etc.

பத்தி வரைகலையியலின் நெறிமுறைகள், செய்முறை, பயன்பாடுகள் பற்றி விவரிக்க.

Describe the principles, procedure and uses of coloumn chromatography.

வண்ண வரைகலை பகுதிக்கு பொதுவாக, கண்ணாடி பியூரெட் பயன்படுத்தப்படுகிறது. வழக்கமாக

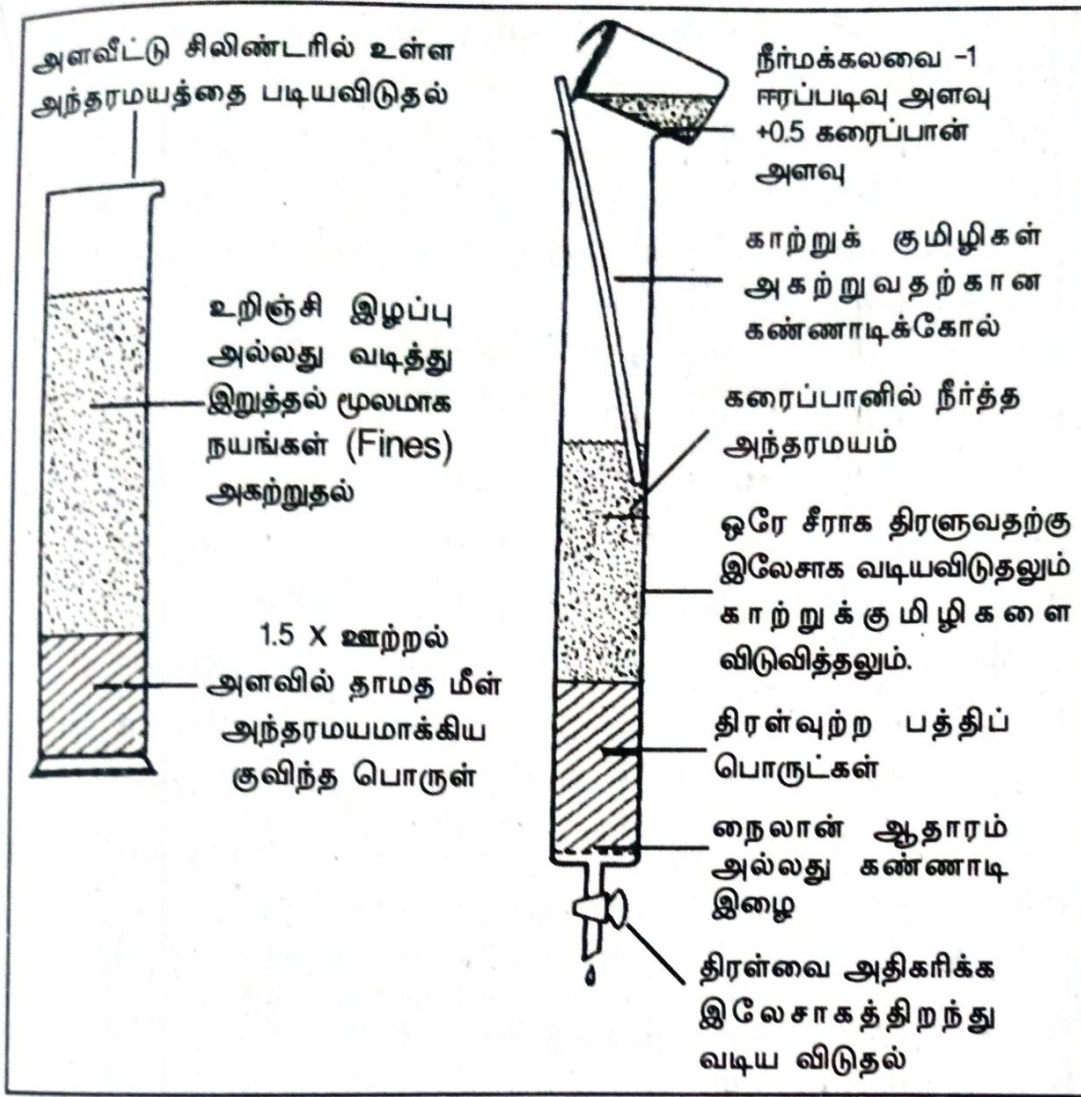
நைட்ரோபென்சின், குளோரோபார்ம், பென்சின், டொலுவின், கார்பன் டை சல்பைடு, சைக்ளோ ஹெக்ஸேன் போன்றவை கரைப்பான்களாகப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. ஸிலிகா ஜெல், அலுமினோ, கரிக்கட்டை, மக்னிஷியம் ஸிலிகேட், டையாட்ட

மண், சுக்ரோஸ் போன்ற பல்வேறு உறிஞ்சிகள் (absorbent) வண்ண வரைகலைக்குப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

பியூரெட்டினை பத்தி (column) எனவும் அழைப்பர். தனிமைப்படுத்தும் பொருட்களின் நல்ல தீர்வு இப்பத்தி வண்ணவரைகலை மூலம் கிடைக்கிறது. தக்க கரைப்பானில் இக்கண்ணாடிப் பத்தி நிரப்பப்படுகிறது. இக்கரைப்பானுடன் சற்று மெதுவாக உறிஞ்சி சேர்க்கப்படுகிறது. இந்த அந்தரமயக் கரைசலை (suspension) படிய அனுமதிக்கப்படுகிறது. மிகைப்படியான கரைசல் வடித்தகற்றப்படுகிறது. போதுமான உறிஞ்சி பத்தியினுள் ஊற்றப்படுகிறது. தேவைப்பட்ட உயரத்தை எட்டும் வரை உறிஞ்சியை ஊற்ற வேண்டும்.

உறிஞ்சியின் புறப்பரப்பிற்கு சற்று மேலாக கரைப்பானின் மட்டம் இருக்குமாறு வைக்கப்பட வேண்டும்.

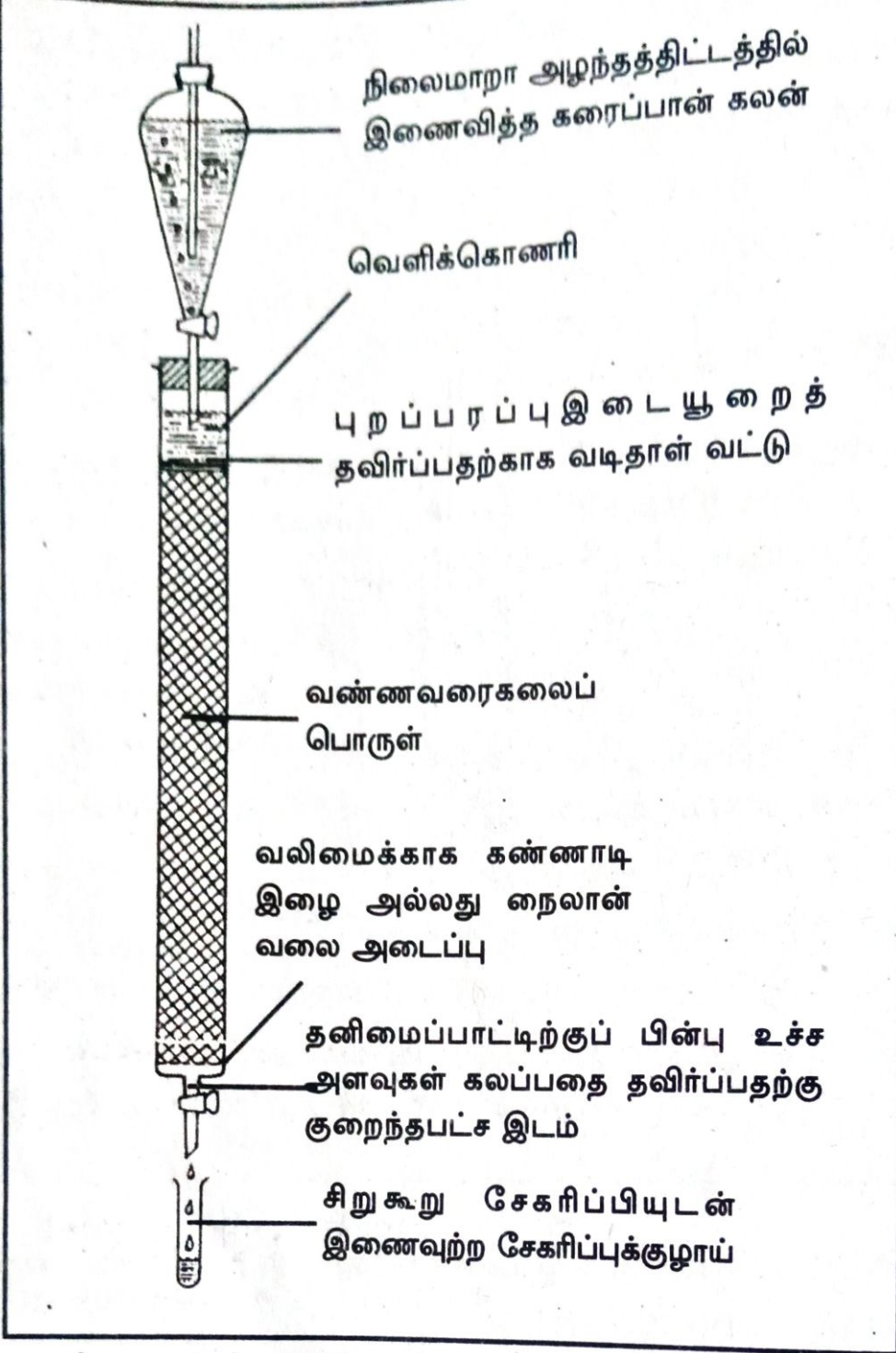
தனிப்படுத்தப்பட உள்ள மூலக்கூறுகலவையை முதல்படியாக பீக்கரில் எடுத்து கரைப்பானால் கரைக்க வேண்டும். பத்தியின் மேலே பிப்பெட் மூலம் இக்கலவை சேர்க்கப்படுகிறது. பத்தியின் மேல் ஒரு கரைப்பான் கலன் (solvent reservoir) இணைக்கப்பட்டுள்ளது. கலவை



மூலக்கூறுகளுடன் கரைப்பான் மிக வலிமையுடன் செயலெதிர் செயல்படுகிறது. (interacted)

உறிஞ்சியுடன் இக்கலவை மிக மோசமாக செயலெதிர் செயல்படுகிறது. எனவே, கலவையின் பிணைவுற்ற மூலக்கூறுகள் பத்தியிலிருந்து படிப்படியாக வெளிக் கொணரப்படுகின்றன. (are eluted). வெகு மூலக்கூறு எடைகொண்ட மூலக்கூறுகள் முதலில் கீழே இறங்குகின்றன. இதனையடுத்து குறை எடை கொண்ட மூலக்கூறுகள் அடுத்தடுத்து கீழே இறங்குகின்றன.

பத்தியிலிருந்து கழிவுநீர் சோதனைக்குழாயில் தொடர்ச்சியாகச் சேகரிக்கப்படுகிறது. இதனை கைபதனமாக செய்து முடிக்கலாம். அல்லது சிறுசிறு சேகரிப்பி (fraction collector) மூலமும் சேகரிக்கலாம். ஒவ்வொரு சிறுகூறும் பின்பு பகுப்பாய்வு செய்யப்படுகிறது.



ஏறுவாக்கு தாள் வண்ண வரைகலையியலைத் தொகுத்து எழுதுக.

(Write an account of ascending paper chromatography)

தாள் வண்ண வரைகலையில், மூலக்கூறுகளின் கலவை அல்லது கரைவம் (solute), வாட்மேன் வடிதாளின் செவ்வகத் தாளின் மீது தனித்தனி மண்டலங்களாக (discrete zones) பிரிக்கப்படுகிறது. பென்சில் மூலம் தாளின் இடப்பக்கத்திலும் அடியிலும் இருகோடுகள் ஒரு அங்குல இடைவெளிவிட்டு போடப்படுகின்றன. அடிக்கோடினமீது கரைவத்தால் புள்ளியிடப்படுகிறது. பின்பு, மூடிய க்ரோமட்டோகிராம்

ஜாரினுள்ளே (chromatogram jar) இத்தாள் அந்தரமாகத் தொங்கவிடப்படுகிறது. தாளின் அடிமுனை ஜாரின் கரைசலில் மூழ்க வைக்கப்படுகிறது. நுண்நாள செயல் (capillary action) கரைப்பானின் இயக்கத்திற்கு ஏதுவாவதால் தாளின்மீது கரைப்பான் எழுகிறது. கரைப்பான் கூடவே கரைவத்தின் மூலக்கூறுகள் மேலே கொண்டு செலுத்தப்படுகின்றன. கன மூலக்கூறுகள் மெதுவாக மேல்நோக்கி நகர்கின்றன. இலேசான மூலக்கூறுகள் துரிதமாக உச்சியை (top) அடைந்துவிடுகின்றன.

ஒவ்வொரு வகை மூலக்கூறுகளும் குறிப்பிட்ட இருப்பமைவு (position) அடைகின்றன. இவ்விதமான இம்மூலக்கூறுகள் வெவ்வேறு இருப்பிடத்தில் அமைகின்றன. இதன்பிறகு தாளில் மேல்முனையை கரைப்பான் அடைவதற்கு முன்னர் ஜாரிலிருந்து தாள் அகற்றப்படுகிறது. பின்பு இத்தாள் உலர வைக்கப்படுகிறது. மூலக்கூறுகளின் இருப்பமைவை வேதியியல் அல்லது இயற்பியல் ரீதியில் இட அமைவு (location) அறியப்படுகிறது.

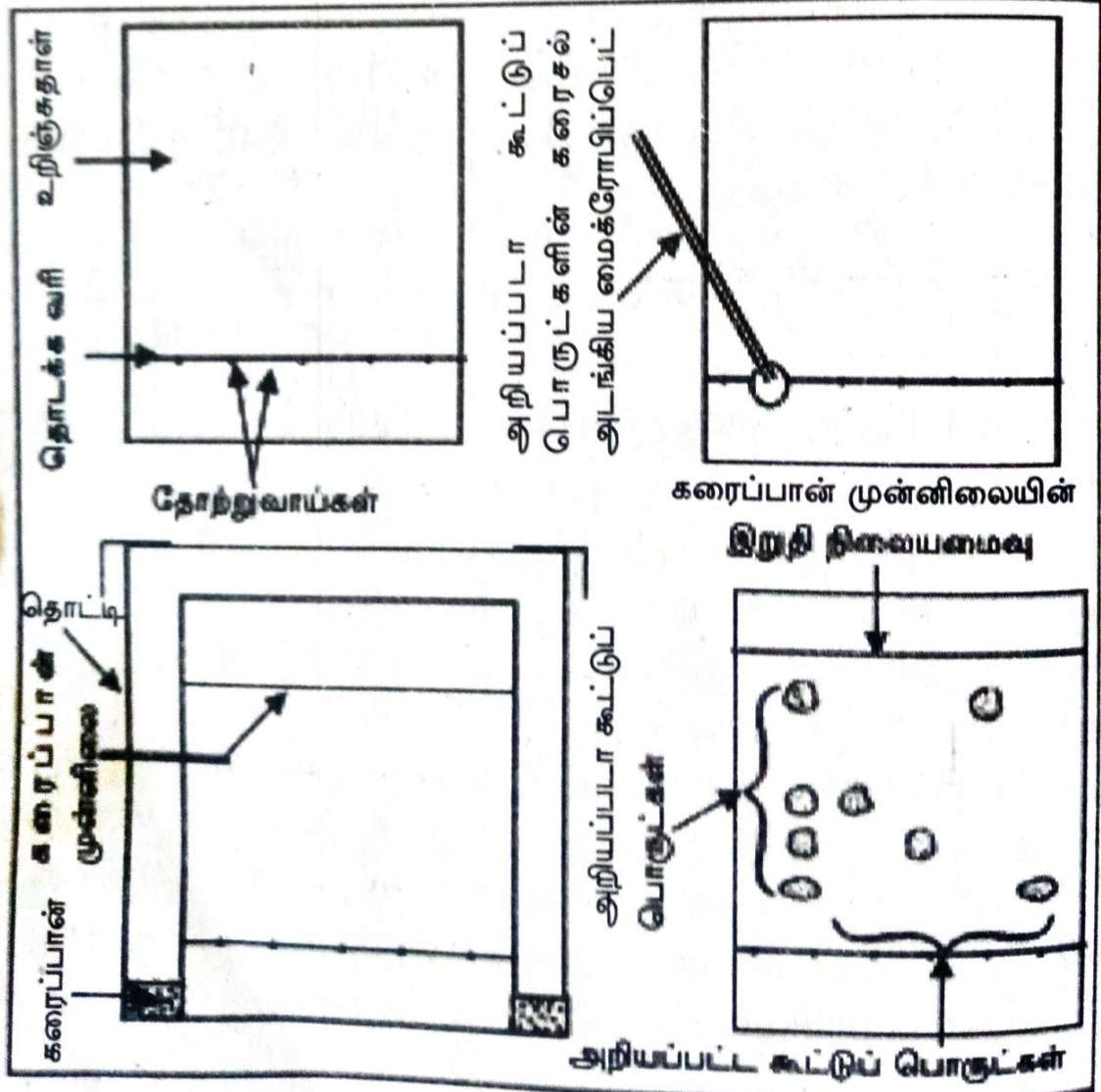
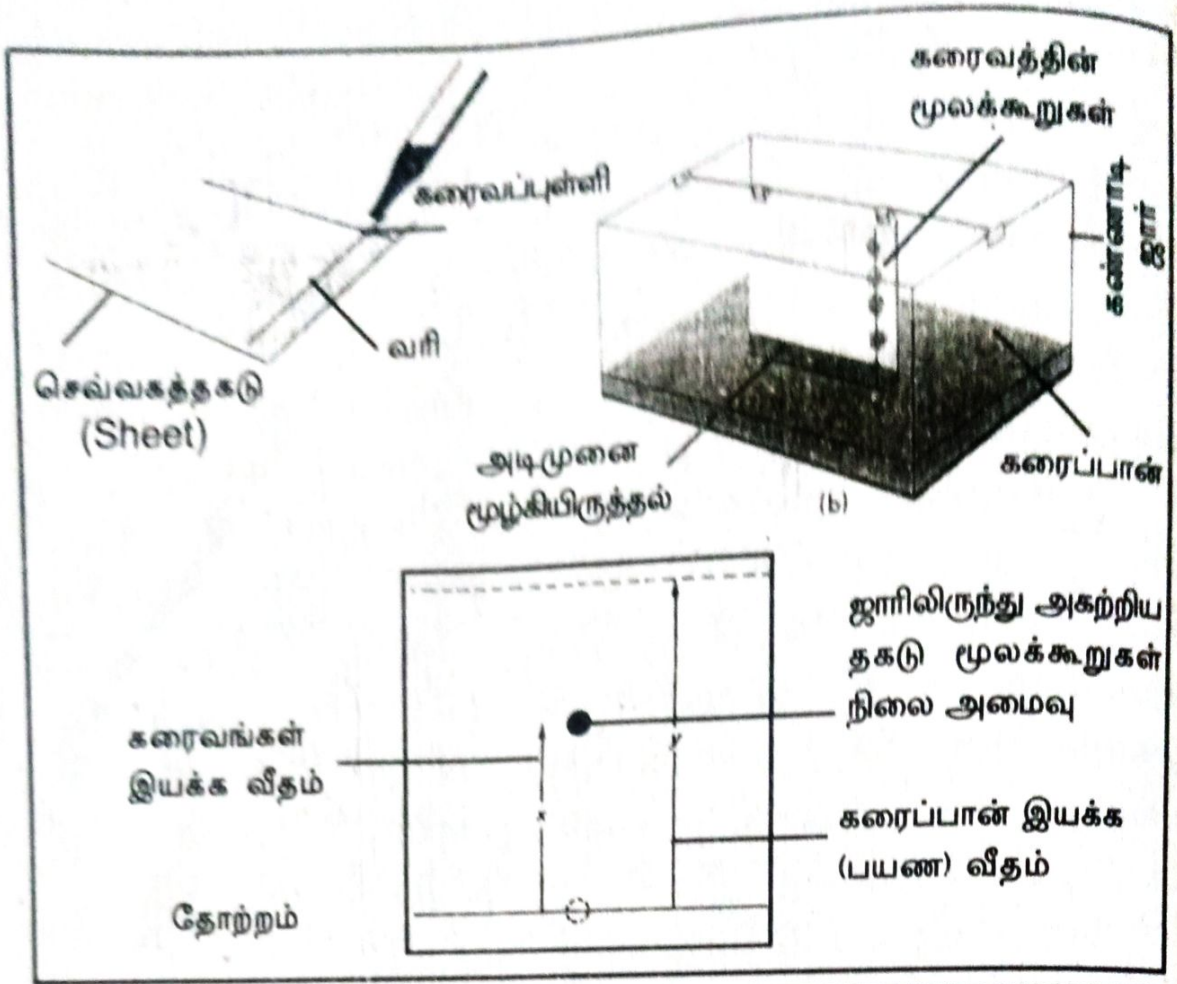
Rf குறியீடு மூலம் ஒரு கரைவத்தின் இயக்க வீதம் (rate of movement) வெளிப்படுத்தப்படுகிறது. கரைப்பானால் பயணமாகிய தூரத்தோடு கரைவத்தால் பயணமாகிய தூரத்தின் விகிதமாக RF உள்ளது.

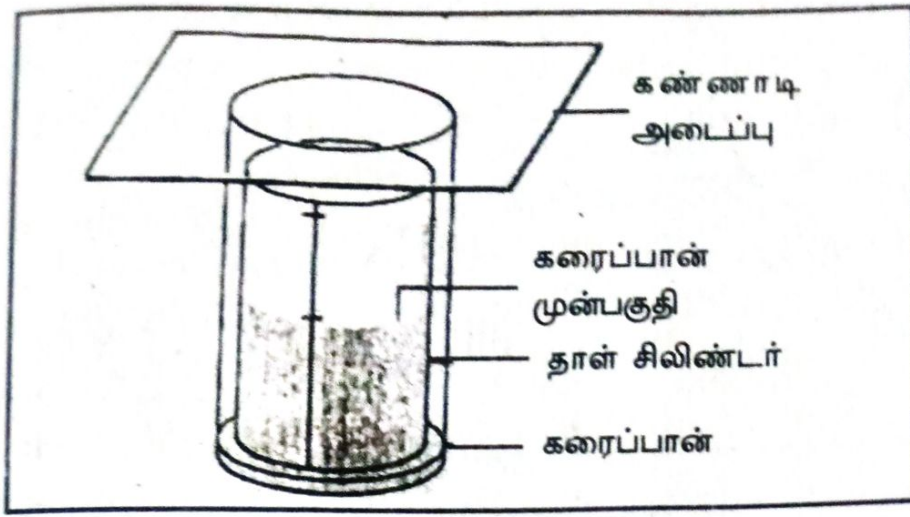
$$\text{RF} = \frac{\text{கரைவம் பயணித்த தூரம்}}{\text{கரைப்பான் மூலம் பயணித்த தூரம்}}$$

ஒப்பீட்டு நிகழ்வெண் (Relative Frequency)

4:1:1 என்ற விகிதத்தில் ப்யுட்டனால்/அசிட்டிக் அமிலம்/நீர் போன்றவை வழக்கமான கரைப்பான்களாக பயன்படுத்தப்படுகின்றன. ஆல்கஹால்/நீர்/அமோனியம் ஹைட்ராக்சைடு கலவை போன்றவை 80:20:1 என்ற விகிதத்திலும் பீனால்/நீர் கலவை 80:20 என்ற விகிதத்திலும் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

ஏறுவாக்கு தாள் வண்ணவரைகலையின் இன்னொரு முறையாக கண்ணாடி உருளையில் தாளினை சுருட்டி (roll) வைப்பதாகும். இந்த உருளை ஜாரில் வைக்கப்பட்ட கரைப்பானில் இச்சுருள் தாள் தொய்த்துவிடப்படுகிறது. இதுவும் நேர்வு (vertical) வண்ணவரைகலையைச் சார்ந்தது.

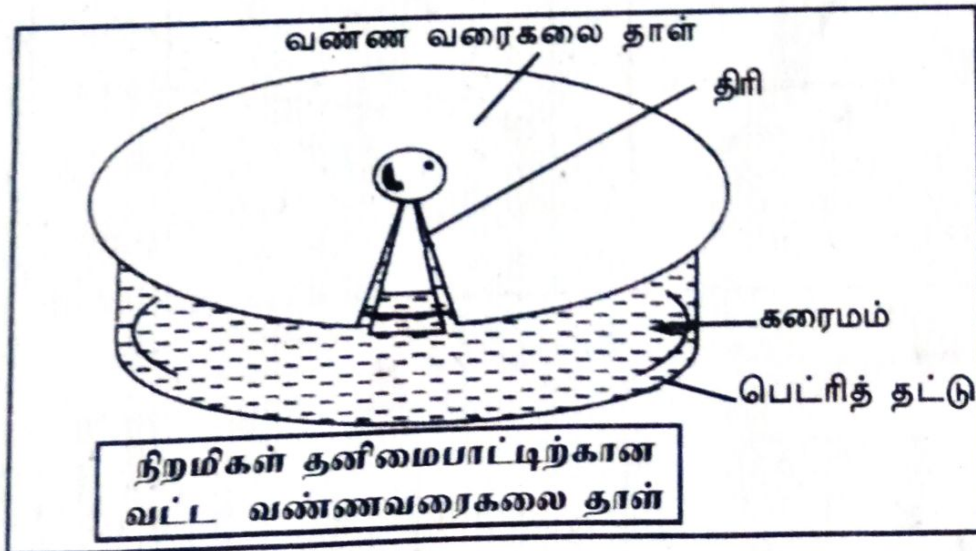




2. இறங்கு வாக்கு தாள் வண்ணவரைகலையியல் (Descending paper chromatography)

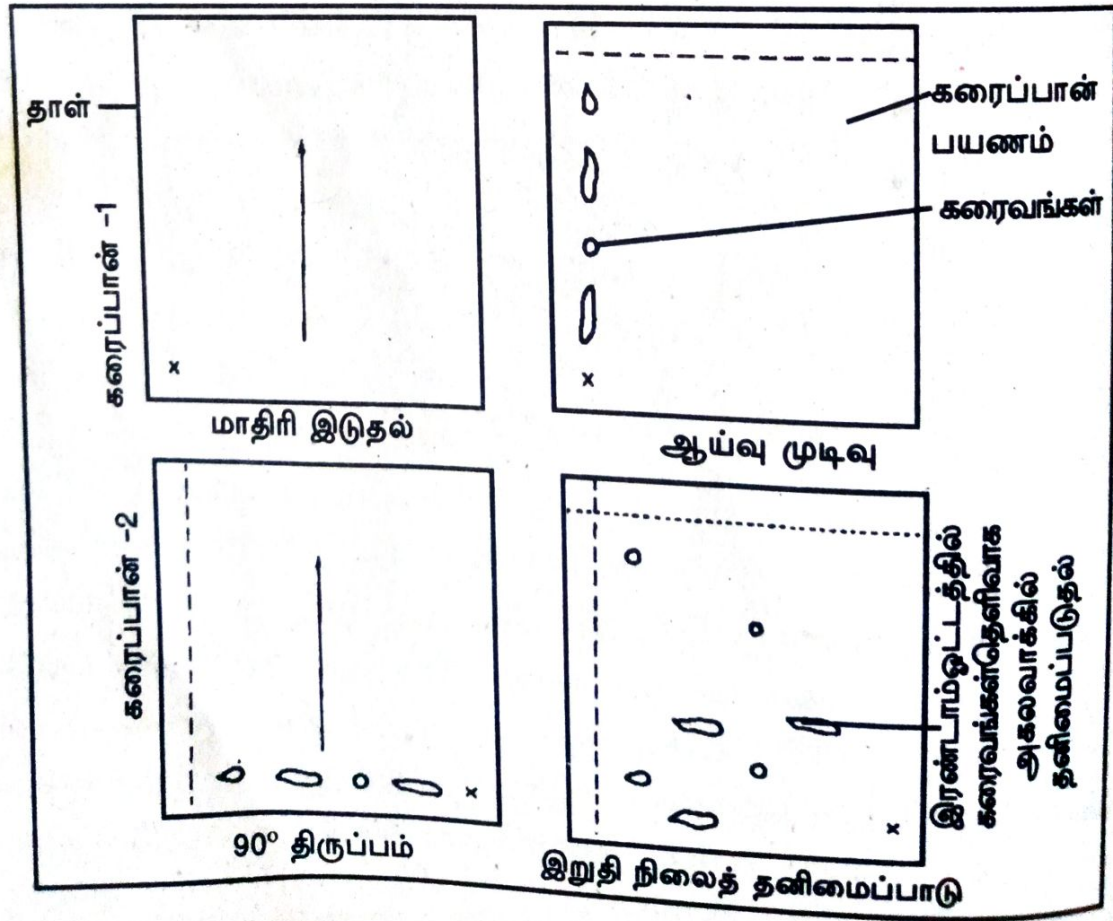
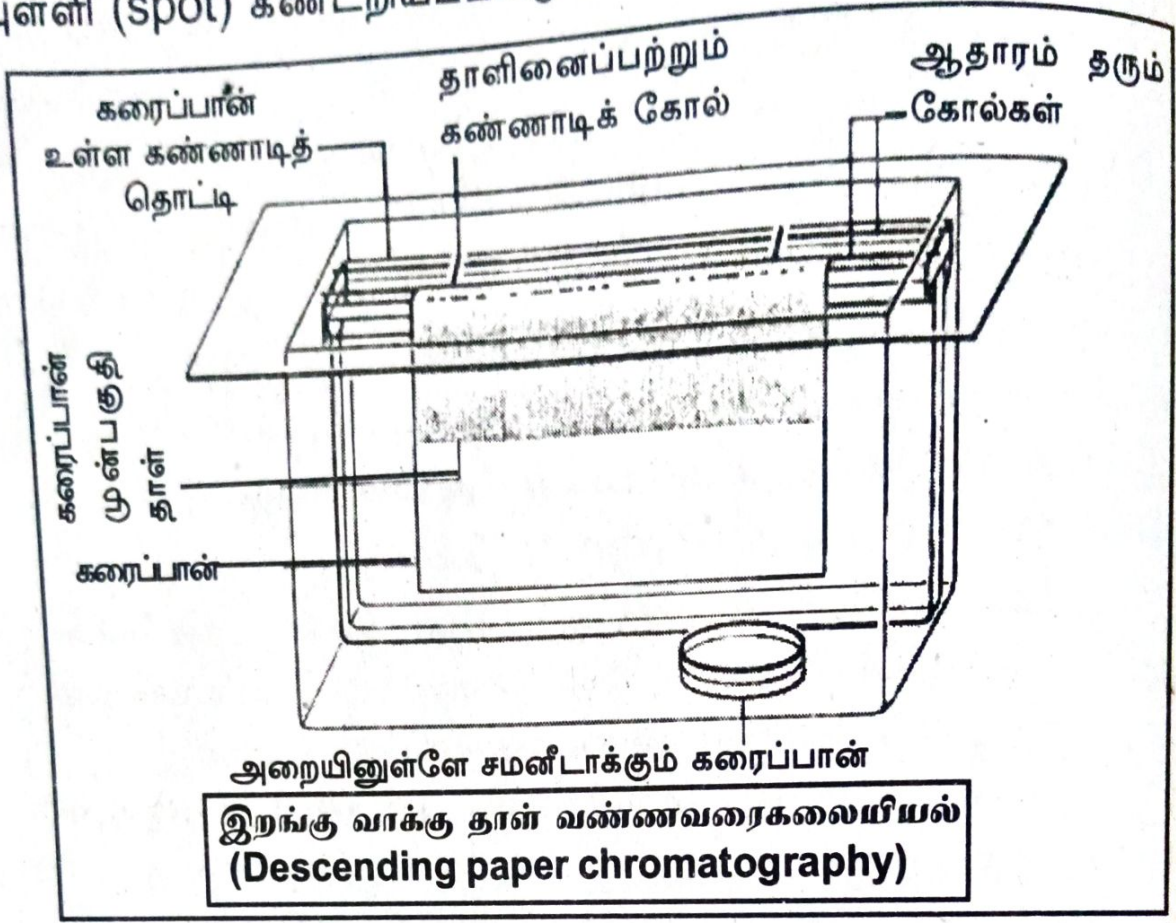
இம்முறையில் கண்ணாடித் தொட்டியில் அடங்கிய கரைப்பானில் தாள் தொங்க விடப்படுகிறது. (ஏனைய முறைகள் யாவும் ஏறுவாக்கு வண்ணவரைகலையினை ஒத்தவை) வட்டத்தாள் வண்ண வரைகலை (circular paper chromatography)

வட்டத்தாள் வண்ணவரைகலைக்கும் செவ்வகத்தாள் வண்ண வரைகலைக்கும் இடையே அடிப்படையில் எவ்வித வேறுபாடும் இல்லை. பெட்ரி தட்டில் கரைப்பான் வைக்கப்பட்டுள்ளது. தாளின் மையப் புள்ளியைச்



சுற்றிலும் வட்டவடிவ கோடில் கரைவம் புள்ளியாக இடப்படுகிறது. கரைப்பான் மீது கிடைமட்டமாக தாள் நிலை நிறுத்தப்படுகிறது. ஒருதாள் வடிதிரியால் வட்டத்தாள் ஆதரவு பெறுகிறது. வடிதிரி மூலம் கரைப்பான் மேல் எழும்புகிறது.

ஆரவாக்கில் இக்கரைப்பான் பரவி, கரைவத்தின் மூலக்கூறுகள், தாளின் விளிம்பு நோக்கித் திரும்புகின்றன. தாள் உலர்ந்த பின்பு, புள்ளி (spot) கண்டறியப்பட்டு Rf மதிப்பு கணக்கிடப்படுகிறது.



ஒரு பருமான தாள் வண்ணவரைகலை

(Two dimensional paper chromatography)

இம் முறையில் கரைவங்களின் தெளிவான பிரிவினையைப் பெற முடியும். தாள்நெடுக ஒரே திசையில் குறிப்பிட்ட கரைப்பான் பயன்படுத்தப்படுகிறது. பின்பு இத்தாள் உலர்த்தப்படுகிறது. பின்பு, 90° கோணத்திற்கு தாள் சுழற்றப்படுகிறது. இப்பொழுது, இரண்டாம் ஓட்டத்திற்காக இன்னொரு கரைப்பான் பயன்படுத்தப்படுகிறது. முதல் ஓட்டத்தின் பொழுது தெளிவாகத் தனிமைப்படாத கரைவங்கள், இரண்டாம் ஓட்டத்தின் பொழுது பரவலாக தனிமைப்பாடு அடைகின்றன.

மெலிவு அடுக்கு வண்ண வரைகலையியல் (Thin Layer Chromatography) (TLC)

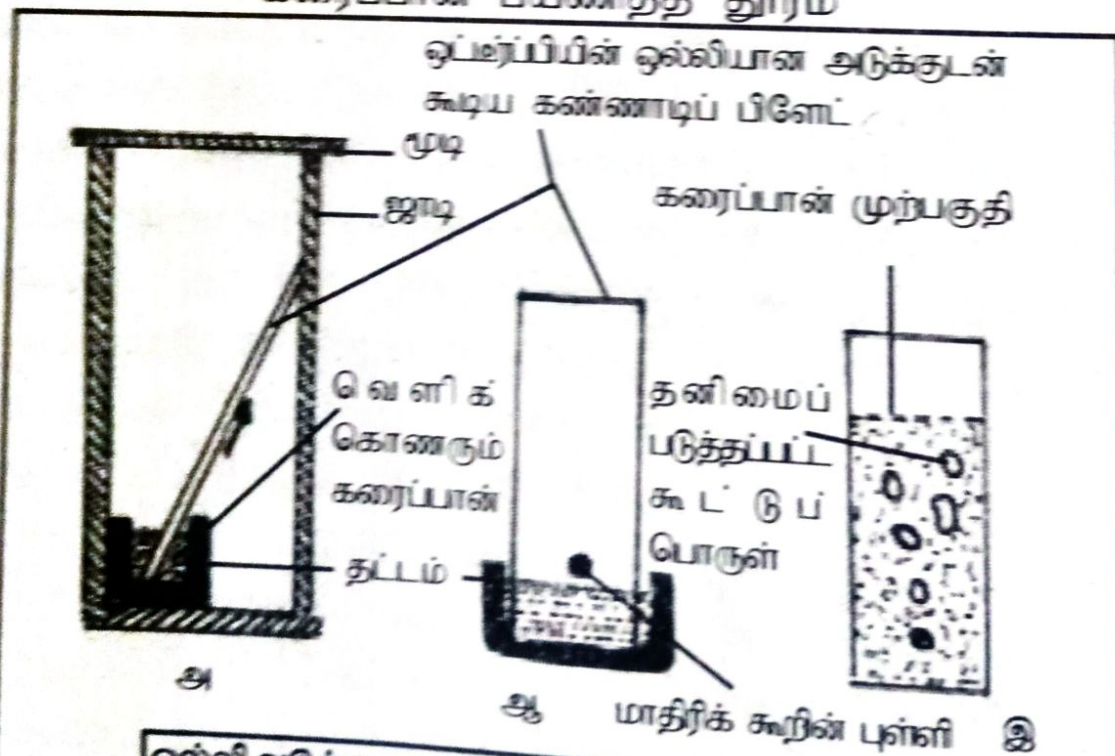
வண்ண வரைகலையியல் என்பது ஒரு உயிர் வேதியியற் நுட்பம் ஆகும். இந்நுட்பத்தில் கலவையில் கூட்டுப்பொருட்கள் அவற்றின் வேறுபாட்டு இடப்பெயர்வும் கரைதிறனையும் பொறுத்து தனிமைப்படுத்தப்படுகின்றன. மெலிவு அடுக்கு வண்ண வரைகலையியல் என்பது மாற்றியமைக்கப்பட்ட தாள் வண்ண வரைகலையியல் ஆகும். வண்ண வரைகலையியலில், சிலிகா ஜெல் அல்லது அலுமினா பொடிகள், கண்ணாடித் தட்டின் புறப்பரப்பு மீது மெலிவு அடுக்காகப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. இதன் காரணமாகவே, இந்நுட்பத்திற்கு மெலிவு அடுக்கு வண்ண வரைகலையியல் என்ற பெயர் சூட்டப்பட்டது. இது ஒரு வகை உறிஞ்சு நுட்பம் ஆகும். உறிஞ்சுதல் என்பது ஒரு பொருளின் புறப்பரப்பு மீது கூட்டுப்பொருட்களின் ஓட்டிக் கொள்வதாகும். இவ்வரைகலையியலில், கலவையின் கூட்டுப்பொருட்கள் திட மற்றும் திரவ நிலைகளுக்கு இடையே தனிமைப்படுத்தப்படுகின்றன. இங்கு, கண்ணாடித் தட்டு ஒரு ஆதார நிலையாக பணி செய்கிறது. சிலிகா ஜெல் அல்லது அலுமினா பொடி ஒரு திட நிலைப்பாடான நிலையாகப் பணிபுரிகிறது. ஒரு பொருத்தமான கரைப்பான், திரவ இடம் பெயரும் நிலையாகப் பயன்படுகிறது. கண்ணாடிப் பிளேட்டின் மீது ஒரு மெலிவான / ஒல்லியான அடுக்காக சிலிகா

ஜெல் பரவவிடப்படுகிறது. அறை வெப்பநிலையில் இது உலர்விக்கப்படுகிறது. உலையில் 250° செ. வெப்பத்தால் இது செயல்படுத்தப்படுகிறது. மெலிவு அடுக்கின் ஒரு முனையில் இக்கலவை புள்ளியிடப்படுகிறது. ஜாடியினுள்ளே இந்த பிளேட் சாய்வான நிலையில் வைக்கப்படுகிறது. பின்பு, பொருத்தமான கரைப்பான் ஜாரில் சேர்க்கப்படுகிறது. இக்கரைப்பானின் அளவு புள்ளி மட்டத்திற்கு கீழாக இருக்குமாறு பார்த்துக் கொள்ள வேண்டும். இந்த மெலிவு அடுக்கின் வழியே மேலாக நகரும் கரைப்பான் கூடவே கூட்டுப் பொருட்களையும் கொண்டு செலுத்துகிறது. 30 நிமிடங்களுக்குப் பின்பு இக்கண்ணாடி பிளேட் அகற்றி உலர்த்தப்படுகிறது. ஒரு பொருத்தமான எதிர்க்காரணி (reagent) கூட்டுப்பொருளின் இருப்பிடத்தை அறிவதற்கு தெளிக்கப்படுகிறது. இதன் பின்பு இக்கூட்டுப்பொருளின் R_f கூறுபாடு முன்புறம் கணக்கிடப்படுகிறது (resolution front)

அமினோ அமிலம் பயணித்த தூரம் (தொலைவு)

$R_f =$

கரைப்பான் பயணித்த தூரம்



ஒல்லி அடுக்கு வண்ண வரை கலையியல்

அமற்றும் ஆ - கண்ணாடி பிளேட்டில் அடங்கிய ஒட்டிப்பி மற்றும் மாதிரிக் கூறின் ஒல்லி அடுக்கு

இமாதிரிக் கூறுகள் தனித்தனி கூட்டுப்பொருட்களாக பிரிந்துக் காணப்படுதல்

TLCயின் முக்கியத்துவம்.

இது ஒரு எளிய நுட்பம், தாள் வண்ண வரைகலையியலைக் காட்டிலும் சிறந்தது. இதற்கு குறைந்த காலம் தேவைப்படுவது குறிப்பிடத்தக்கது. இது ஒரு துரிதமாக நிலைமாரும் நுட்பமாக உள்ளது. தாள் வண்ண வரைகலையியலைக் காட்டிலும் இது துரிதமானது. அமினோ அமிலங்கள் போன்ற பல்வேறு வேதிப்பொருட்களை தனிமைப்படுத்துவதற்கு இந்நுட்பம் சிறந்ததாக கருதப்படுகிறது.

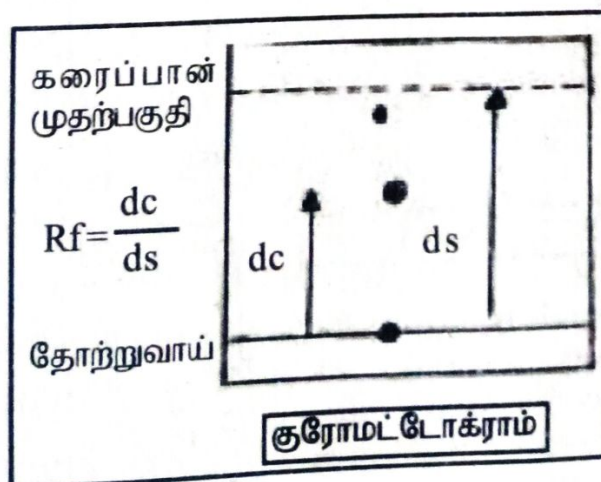
மெலிவு அடுக்கு வண்ண வரைகலையியல் A மற்றும் B கண்ணாடி பிளேட்டில் உறிஞ்சு வேதிப் பொருளும் மாதிரி பொருளும் மெலிவு அடுக்காக உள்ளது. C படத்திலும் மாதிரிப் பொருட்கள் தனித்தனியான கூட்டுப் பொருட்களாக பிரிவுற்றிருப்பதைக் காணலாம்.

மூடி, ஜாடி, வெளிக்கொணரும் கரைப்பான் தட்டம், உறிஞ்சி பொருளின் ஒல்லியான அடுக்குடன் கண்ணாடி பிளேட், மாதிரிப் புள்ளி, தனிமைப்படுத்தப்பட்ட கூட்டுப் பொருள், கரைப்பான் முன்முகப்பு.

குரோமட்டோக்ராம் (Chromatogram)

வண்ணவரைகலையின் தயாரிப்புகள் குரோமட்டோக்ராம் என அழைக்கப்படுகிறது. இது ஒரு செவ்வக வாட்மேன் வடிதாள் ஆகும். கலவையிலிருந்து தனிமைப்படுத்துப்பட்ட அமினோ அமிலங்கள் அடங்கிய வடிதாள் ஆகும். கலவையின் புள்ளி எங்கு வைக்கப்படுகிறதோ அந்தப் புள்ளி தோற்றுவாய் (origin) என அழைக்கப்படுகிறது. குரோமட்டோக்ராமின் பாகங்கள், R_f மதிப்புகள் மூலம் கண்டறியப்படுகின்றன. இங்கு R_f என்பது தீர்மானமான முற்பகுதி (Resolution front) என அழைக்கப்படுகிறது.

$R_f = \frac{dc}{ds}$ இங்கு dc என்பது கலவைக்கூறு பயணித்த தூரம் ds என்பது கரைப்பான் நகர்ந்த தூரம்





அக்ரோஸ் ஜெல் எலெக்ட்ரோபோரேசிஸ் (Agarose gel Electrophoresis)

மூலக்கூறுகளின் மின்விசை செறிவையும் உருவளவையும் பொறுத்து அவற்றை தனிமைப்படுத்துவதற்கு அக்ரோஸ்ஜெல் என்பது ஒரு ஆதார ஊடகமாகப் பயன்படுகிறது. இவ்வகை தனிமைப்படுத்தும் முறை அக்ரோஸ் ஜெல் எலெக்ட்ரோபோரேசிஸ் என அழைக்கப்படுகிறது.

நெறிமுறை

மின்னேற்ற மூலக்கூறுகள் அடங்கிய அக்ரோஸ் ஜெல் பாளத்தின் வழியாக நேரம் மின்சாரம் கடக்கும் பொழுது நேர்மின்னேற்ற நேர் மின்மங்கள் (+) எதிர் மின்வாய்களை நோக்கி (-) பெயர்வதுடன் எதிர்மின்னேற்ற எதிர்மின்னேற்ற எதிர்மின்மங்கள் (anions) (-) நேர்மின்வாய் (+) நோக்கி நகரக்கூடும். புரதங்களும், அமினோ அமிலங்களும் எதிர்மின்னேற்ற மூலக்கூறுகள் ஆகும். இதன் காரணமாக இவை எதிர்மின்வாய் நோக்கி நகரக்கூடும்.

மூலக்கூறுகளின் இயங்குதிறன் அதன் உருவளவும், வடிவம், மின்னேற்றம் ஆகியவற்றினைப் பொறுத்தது. இவை மட்டுமின்றி பி.ஹெச், அந்தரமய ஊடகச் சேர்மானம். மின்விசை ஆகியனவும் இயங்குதிறனை தீர்மானிக்கின்றன.

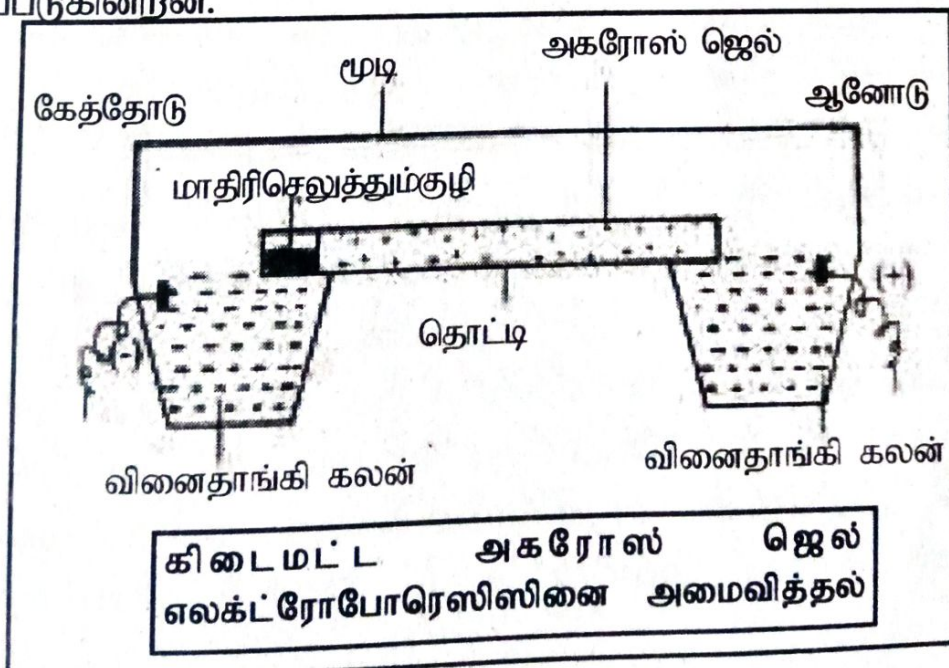
அக்ரோஸ் என்பது D - கேலக்டோஸ், L - கேலக்டோஸ் ஆகியவற்றின் ஒரு வரிசைக்கிரமமான பாலிமெர் ஆகும். இது நீரில் கலக்கும் பொழுது அக்ரோஸ் அலகுகளுக்கு இடையே குறுக்கு இணைப்புக்கு உட்பட்டு ஜெல் எனும் துளைவு மேட்ரிக்கைத் தருகிறது. ஜெல்லினுள் இக்கரைசல் பரவலாக இருந்தால் அத்துளைப்புகள் சல்லடையாக கழிக்கும் திறனைக் கொண்டிருக்கும். இதன் விளைவாக, பெரு மூலக்கூறுகளைக் காட்டிலும் மிக விரைவாக ஆனோடு நோக்கி சிறு மூலக்கூறுகள் நகர்கின்றன. அக்ரோஸ் அடர்வைப் பொறுத்து துறையின் உருவளவு தீர்மானிக்கப்படுகிறது. DNA, mRNA ஆகிய இரண்டும்

எதிர் மின்னேற்றம் கொண்டவை. எனவே இவற்றிற்கு மின்புலம் உதவுவதால் அனோடிக்முனை (anodic end) நோக்கி இவை நகர்கின்றன.

செய்முறை

அகரோஸ் என்பதை (0.8/100ml of 1 x TAE buffer) என்ற அளவில் கலந்து நுண் அலை உலையில் வைத்து சூடுபடுத்தப்படுகிறது. பின்பு, 75மி.மி உயரங் கொண்ட எலெக்ட்ரோபோரேஸிஸ் சாதனத்தில் உள்ள தொட்டிக்கு மாற்றப்படுகிறது. திடநிலை பெறுவதற்கு முன்னர் பளுவேற்றம் கிணறுகள் (குழிகள்) (loading wells) தயாரிப்பதற்கு ஒரு முனையில் சீப்பு பொருத்தப்படுகிறது. ஜெல்லில் பளு குழிகள் வைப்பதற்கு இந்தி சீப்பு (comb) அகற்றப்படுகிறது. 1 x TAE வினைதாங்கி மூலம் வினை தாங்கிக் களஞ்சியங்கள் நிரப்பப்படுகின்றன. வரையறை நொதியின் மூலமாக DNA மாதிரி செரிமானிக்கப்படுகிறது. திரள்களை அகற்றுவதற்காக இந்த DNA மாதிரி 2 நிமிடங்களுக்கு 65°செ. வெப்பநிலையில் சூடுபடுத்தப்படுகிறது. இவ்வகற்றல் மூலமாக தனித்தனி DNA கண்டங்கள் பெறப்படுகின்றன.

எலெக்ட்ரோபோரேஸிஸ் மேம்பாடு அறிவதற்கு ப்ரொமொபினால் நீலம் DNA மாதிரியுடன் கலக்கப்படுகிறது. இதனால் இச்சாயம் இடம் பெயரும் வீதத்தை எளிதாக அறிந்து கொள்ள முடியும். கிணறுகளில் மாதிரிப் பொருள் நிரப்பப்படுகிறது. ஒரு கிணற்றினுள்ளே பொருத்தமான மூலக்கூறு குறியீடுவிகள் ஏற்றப்படுகின்றன.



எலெக்ட்ரொபொரெஸிஸ் சாதனம் மின் இணைப்புக்கு அனுமதிக்கப்படுகிறது. எதிர்மின்வாய் முனையிலிருந்து நேர்மின்வாய் முனை நோக்கி DNA கண்டங்களின் இயக்கம் துவங்குகிறது. சுமார் ஒரு மணிநேரத்திற்குப் பின்பு மின் இணைப்பு அணைக்கப்படுகிறது. பின்பு இந்த ஜெல் இத்திடயம் ப்ரோமைடு உள்ள கலனிற்கு மாற்றப்படுகிறது. கரையேறிய ஜெல் வாலை வடிநீரில் கழுவப்படுகிறது. இதன் மூலம் ஜெல்லிலிருந்து ஒட்டப்படாத இத்திடயம் புரோமைடு நீக்கப்படுகிறது. DNA பட்டைகள் தோன்றுவது இலேசுப் பட்டைகளாகக் (Light bands) காணக்கூடும். எனவே யு.வி. ட்ரேன்ஸ் வெளிச்ச மூட்டிக்கு (transilluminator) அடியே ஜெல் வைக்கப்பட்டு யு.வி. விளக்கில் உட்படுத்தப்படுகிறது. மூலக்கூறு குறியிடுவிகளின் அமைவுகளுடன் கூடிய தொடர்புறவில் டி.என்.ஏ. கண்டங்களை ஒப்பிடுவதால் அக்கண்டங்களின் உருவளவினைக் கணக்கிட முடியும்.

பிரயோகிப்புகள் (Applications)

(1) ஒரு மாதிரியில் உள்ள DNA கண்டங்களைத் தனிமைப்படுத்துவதற்கு (2) DNA கண்டங்களின் தூய்மையைக் கண்டறியப் பயன்படுத்தல், (3) DNA கண்டங்களின் உருவளவைத் தீர்மானிப்பதற்கு, (4) ஒரு கரைசலில் உள்ள புரதங்களைத் தனிமைப்படுத்துவதற்கு இந்நுட்பம் பயன்படுதல்.

பாலி அக்ரிலமைடு ஜெல் எலெக்ட்ரொபொரெஸிஸ் (Polyacrylamide gel electrophoresis) (PAGE)

தனிமைப்படுத்தும் ஊடகமாக பாலி அக்ரிலமைடு ஜெல் பயன்படுத்தி மூலக்கூறுகளின் மின்விசைச் செறிவும் உருவளவும் பொறுத்து அம்மூலக்கூறுகளை தனிமைப்படுத்துவது, பாலி அக்ரிலமைடு ஜெல் எலெக்ட்ரொபொரெஸிஸ் என அழைக்கப்படுகிறது.

மின்விசை செறிந்த மூலக்கூறுகள் அடங்கிய பாலிஅக்ரிலமைடு ஜெல் ஊடாக நேரடியாக மின்சாரம் கடந்தால் நேர்மின் அயனிகள் (cations) + எதிர்மின் அயனிகள் (cathode) (-) நோக்கி பெயர்வதுடன் எதிர்மின் அயனிகள் (anions) (-) நேர்மின்வாய் (+) (anode) நோக்கியும் பெயர்கின்றன. புரதங்களும், நியூக்ளிக் அமிலங்களும் எதிர்மின்னேற்ற மூலக்கூறுகளாக இருப்பதால் இவை நேர்மின் வாய் நோக்கி பெயர்வதற்கு

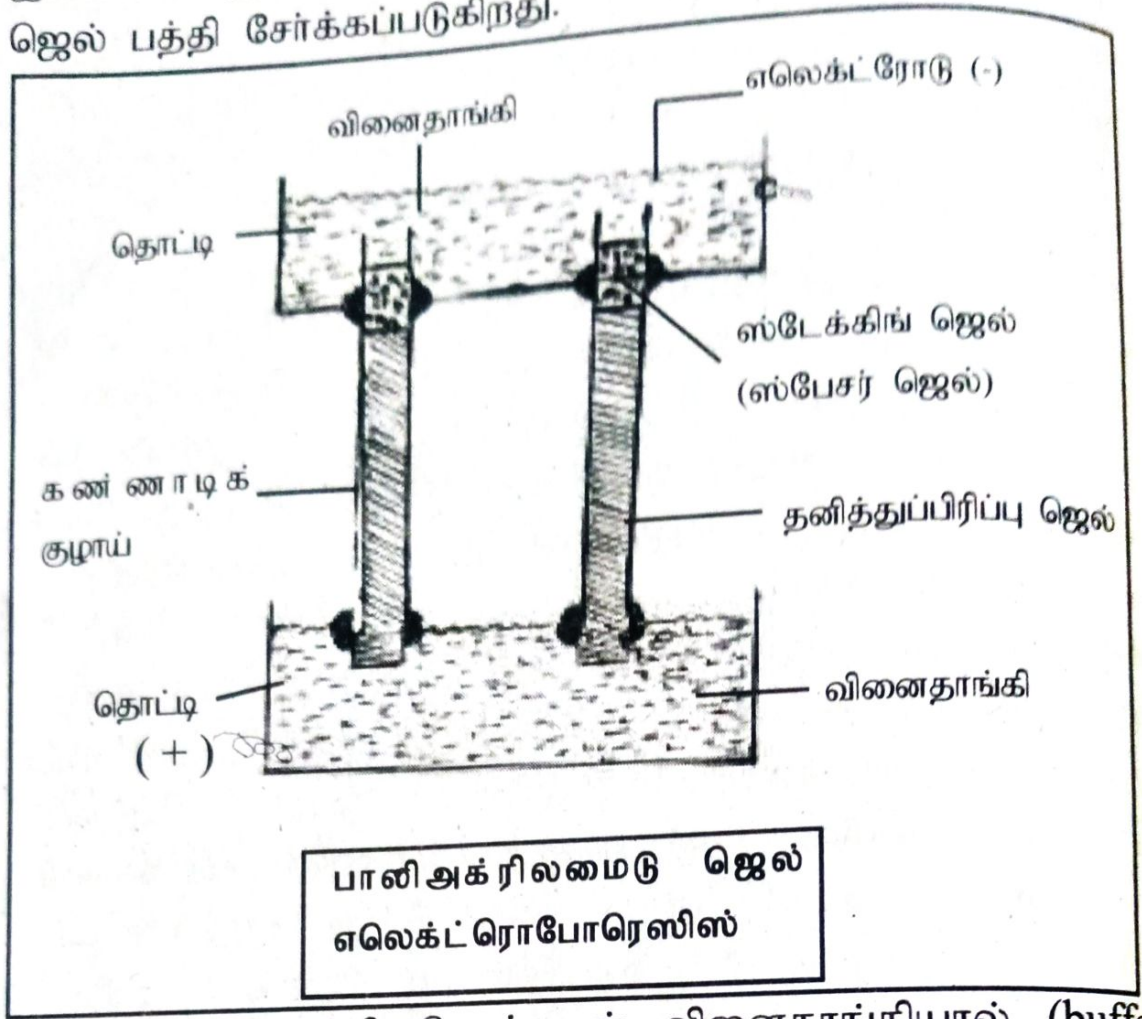
ஏதுவாகின்றன. பெரும் மூலக்கூறுகளைக் காட்டிலும் ஜெல் வழியே சிறு மூலக்கூறுகள் துரிதமாக இடம் பெயர்கின்றன. மூலக்கூறுகள் நிகர மின் செலுத்தும், உருவளவு, வடிவம், பி.ஹெச் மற்றும் அந்தரமய ஊடகம், மின்சாரம் ஆகியவற்றினைப் பொறுத்து மூலக்கூறுகளின் இயங்குதிறன் சார்ந்துள்ளது.

மெத்திலின் பிஸ்அக்ரிலமைடு, அமோனியம் பர்சல்பேட் முன்னிலையில் அக்ரிலமைடுவின் பலபடியாக்கம், பாலி அக்ரிலமைடு ஜெல்லினைத் தருகிறது. அடியே அடைக்கப்பட்ட ரப்பர் முடியும் மேலே நீரடுக்கும் கொண்ட சிறு குழாய்களில் ஜெல்லினை பலபடியாக்கத்திற்கு அனுமதிக்கும் பொழுது சீரான துளைகளுடன் கூடிய குறுக்கு இணைப்பு மேட்ரிக்ஷின் பத்தியை (column) இந்த ஜெல் உருவாக்குகிறது. மேலடுக்கின் நீர் பலபடியாக்கத்துடன் குறுக்கீடு செய்யும் காற்றினை விலக்குகிறது. கரைசலிலுள்ள அக்ரிலமைடு அடர்வைத் திருத்தி அமைத்து துளையின் உருவளவை மாற்றியமைக்க முடியும். நியூக்ளிக் அமிலங்களைத் தனிமைப்படுத்துவதற்கு 2.5 சதவீதம் அக்ரிலமைடு பொருத்தமாக உள்ளது. வெவ்வேறு புரதங்களை தனிமைப்படுத்துவதில் 7.5 சதவீதம் அக்ரிலமைடு மிகவும் பயனுள்ளதாக உள்ளது.

சாதனம் (apparatus)

Page கருவியானது இரு வினைதாங்கி தொட்டிகளை உள்ளடக்கி உள்ளது. இவற்றிற்கு இடையே இரு கண்ணாடிக்குழாய்கள் உள்ளன. ஒரு வினை தாங்கி தொட்டியினை கீழ்தொட்டி என அழைப்பர். இது முடியுடன் கூடிய சிறு கண்ணாடி அறை ஆகும். இம்முடியில் துவாரங்கள் உள்ளன. ஒவ்வொரு துவாரமும் ரப்பர் தக்கை உதவியினால் கண்ணாடிக் குழாயுடன் பொருத்தப்பட்டுள்ளது. இன்னொரு வினைதாங்கித் தொட்டிமேற் தொட்டி என அழைக்கப்படுகிறது. இத்தொட்டியின் அடியில் துவாரங்கள் உள்ளன. கண்ணாடிக் குழாயின் மேல்முனை ரப்பர் தக்கையால் ஒவ்வொரு துவாரத்திலும் பொருத்தப்பட்டுள்ளது. இக்கண்ணாடிக் குழாய் 1 செ.மீ குறுக்களவு கொண்ட உருவளவுடன் கூடிய சிறிய குழாய் ஆகும். இதன் நீளம் 25 செ.மீக்கு குறைவாக இருக்கும். தொட்டிகளுக்கு

இடையில் ஜெல் பத்திகளைச் சேர்ப்பதற்கு முன்னர் அக்குழாயில் ஜெல் பத்தி சேர்க்கப்படுகிறது.



வினைதாங்கி தொட்டிகள் வினைதாங்கியால் (buffer) நிரப்பப்படுகின்றன. ஒரு பிளாட்டினம் எலக்ட்ரோடு (எதிர் மின்வாய்) மேற் தொட்டியில் நுழைக்கப்பட்டுள்ளது. இன்னொரு எலக்ட்ரோடு (நேர் மின்வாய்) அடித்தொட்டியில் இணைக்கப்பட்டுள்ளது. சில வடிவமைப்புகளில் அடித்தொட்டியிலிருந்து மேற் தொட்டியினுள் வினைதாங்கியை 'பம்பு' பண்ணப்படுகிறது. பின்பு இவ்வினைதாங்கி அடித்தொட்டிக்குத் திரும்ப அனுமதிக்கப்படுகிறது. இதனை வினைதாங்கி மீள்சுழற்சி முறை (recycling system) என அழைப்பர். செய்முறை

உள்ளீடற்ற கண்ணாடிக் குழாய்களின் அடிமட்டத்தின் மேலாக ரப்பர் மூடிகள் வைக்கப்பட்டுள்ளன. 7.5% அக்ரிலமைடு அமோனியம் பர்சல்பேட் மற்றும் சிறுதுளைக் கரைசல் அடங்கிய அக்ரிலமைடு கரைசல், கண்ணாடிக் குழாயில் நிரப்பப்படுகிறது. அக்ரிலமைடு கரைசலின் மேலாக நீர் சேர்க்கப்பட்டு திடநிலை அடைவதற்காக 25-40 நிமிடங்களுக்கு அப்படியே அக்குழாய் வைக்கப்படுகிறது. பின்பு நீர் அடுக்கு நீக்கப்பட்டு 2.5%

அக்ரிலமைடு கரைசல் அடங்கிய பொருந்துளை கரைசல், திடமேறிய ஜெல்லின் மீது சேர்க்கப்படுகிறது. பி.ஹெச் 8.3 என்ற நிலையில் ட்ரிஸ் வினைதாங்கியுடன் இந்தஜெல் அடைக்கப்படுகிறது. சுமார் 50மி.லி. ஆல்புமினும் (மாதிரிப்புரதம்) 40% w/v அளவிலான சுக்ரோசும் செல்லின் சச்சியில் சேர்க்கப்படுகின்றன. எலெக்ட்ரொபேரஸின் நிகழ்வைக் காட்டுவதற்காக இதனுடன் ப்ரொமொபினால் நீலம் சேர்க்கப்படுகிறது.

ரப்பர் மூடிகள் அகற்றப்பட்டு வினைதாங்கி களஞ்சியங்களுடன் கண்ணாடிக் குழாய்கள் இணைக்கப்படுகின்றன. இக்களஞ்சியங்களில் ட்ரிஸ் வினைதாங்கி நிரப்பப்படுகிறது. எலெக்ட்ரொபேரெஸ் கருவிக்கு மின் ஆற்றல் அனுமதிக்கப்படுகிறது. இதனால், ஜெல் கோலின் எதிர்முனையை ப்ரொமொபினால் நீலம் அடையும்வரை ஜெயல் ஓடுகிறது. ஜெல் மற்றும் கண்ணாடிக் குழாய்க்கும் இடையே பீற்றூசி (syringewa) உதவியால் நீர் வெளியே எடுக்கப்பட்டு ஜெல் கோல்கள் கண்ணாடிக் குழாய்களிலிருந்து சேகரிக்கப்படுகின்றன.

மாதிரிக்கூறில் புரதங்கள் இருந்தால் அமைடொ பிளாக் அல்லது கூமாஸ்ஸி நீலம் மூலம் கோல்கள் நிறமுற்றுக் கொள்கின்றன. அசிட்டிக் அமிலம் மூலப் ஜெல் கழுவப்பட்ட பின்னர் புரதங்கள் இருப்பதை நிறப்பட்டைகள் மூலம் கட்டிடமாக்க முடியும்.

மாதிரிக்கூறில் DNA க்கள் இருந்தால் இத்திடயம் புரோமைடு ஜெல் கோல்கள் கறைபடுவதுடன் இலேசுப் பட்டைகளுக்கான யு.வி. ட்ரேன்ஸ் வெளிச்ச மூட்டியின் கீழ் கட்டிடமாக்கப்படுகின்றன.

பிரயோகிப்புகள்

உயிரியற் மாதிரிகளில் உள்ள DNA க்களையும் புரதங்களையும் தனிமைப்படுத்தி தூய்மையாக்குவதற்கு PAGE பயன்படுகிறது. பொருண்மைபாடின்றி மின் செலுத்தத்தை பொறுத்து புரதங்களைத் தனிமைப்படுத்துவதற்கு இது பயன்படுகிறது. புரதங்கள், DNA க்கள் ஆகியவற்றின் மூலக்கூறு எடையினைத் தீர்மானிப்பதற்கு இந்நுட்பம் பயன்படுகிறது. புரதங்கள், DNA க்கள் ஆகியவற்றை அளவிட்டறிவதற்கு இம்முறை

பயன்படுகிறது. PCR, DNA தொடர்வரிசையாக்கத்திற்கு இந்நுட்பம் பயன்படுகிறது.

எஸ்.டி.எஸ்-பாலி அக்ரிலமைடு ஜெல் எலெக்ட்ரொபொரெசிஸ் (SDS – Ployacrylamide gel electrophoresis (SDS – PAGE)

புரத மின்னேற்றம் மட்டுப்படுத்துவதற்கு ஒரு கட்டியாக (திடமாக) சோடியம் டொடெசில் சல்பேட்டும் (SDS) தனிமைப்படுத்தும் ஊடகமாக பாலி அக்ரிலமைடு ஜெல் பயன்படுத்தியும் மூலக்கூறுகளின் உருவளவினைப் பொறுத்து தனிமைப்படுத்துவது, SDS – PAGE என அழைக்கப்படுகிறது.

நெறிமுறை

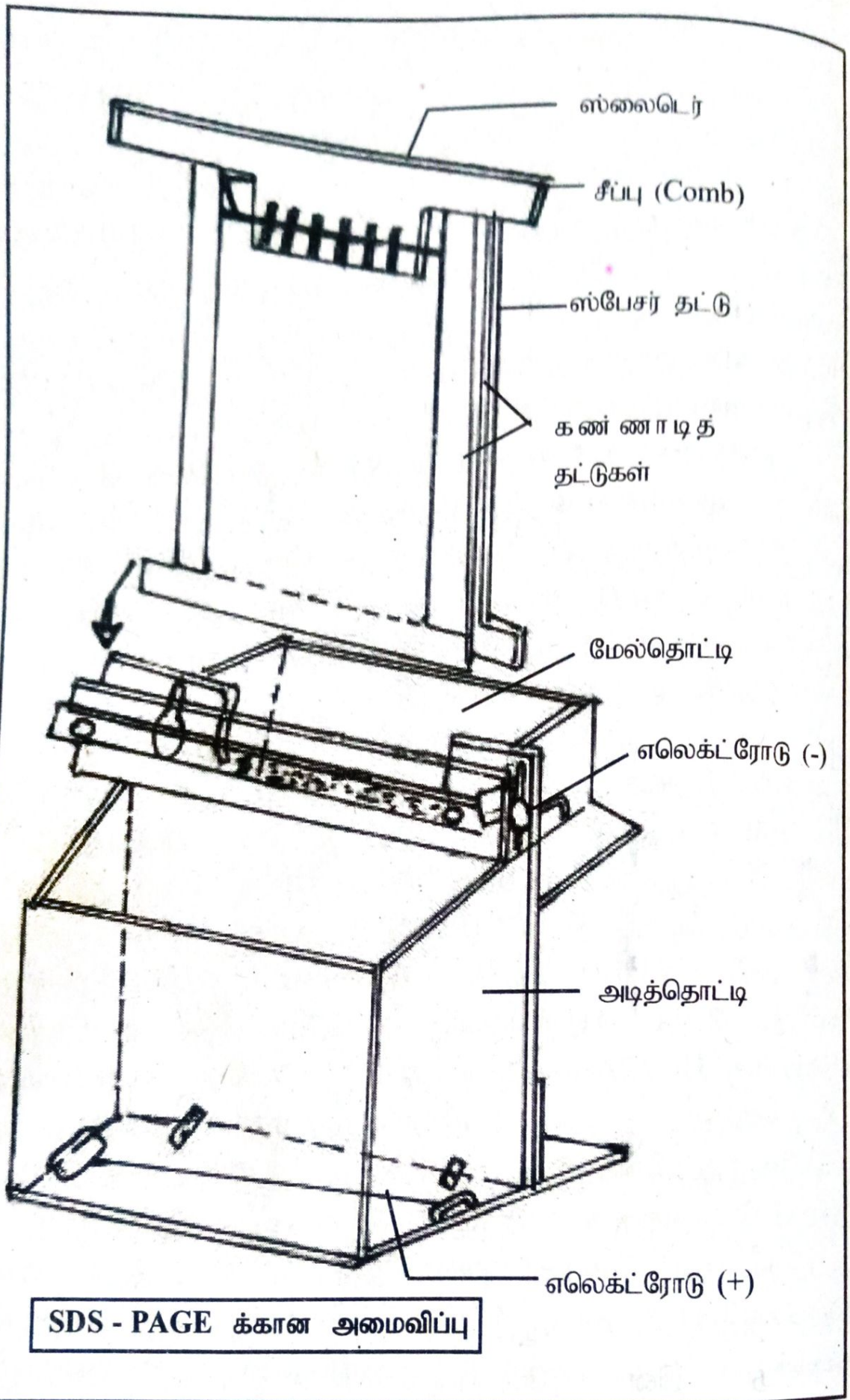
சோடியம் டொடெசில் சல்பேட் (SDS) என்பது ஒரு எதிர்மின் சார்ந்த கட்டி (detergent) ஆகும். புரதங்கள் அடங்கிய ஒரு கரைசலில் SDS சேர்க்கப்படும் பொழுது, புரதங்களின் பாலிபெப்டைடுவடன் கட்டி மூலக்கூறுகள் பிணைவுற்றுக் கொள்கின்றன. இவ்விதமாக, புரதத்திலுள்ள அமினோ அமில எச்சங்களின் கிட்டத்தட்ட பாதி எண்ணிக்கை, புரதத்துடன் பிணைவுற்ற SDS மூலக்கூறுகளின் எண்ணிக்கையாக உள்ளது. இந்த SDS – புரதக் கூட்டமைப்பு கொஞ்சம் நிகர எதிரிடை மின்னேற்றம் கொண்டதாக உள்ளது. எனவே புரதங்களின் உருவளவைப் பொறுத்து நேர்மின்வாய் நோக்கி புரதங்கள் நகரக்கூடும். புரத மூலக்கூறுகளின் இயங்குதிறன் என்பது நிகர மின்னேற்றம், மூலக்கூறுகளின் உருவளவு மற்றும் வடிவத்தைப் பொறுத்ததாக உள்ளது. பொருத்தமான அடர்விலும் அம்மோனியம் பர்சல்பேட் முன்னிலையிலும் அக்ரிலமைடு கரைசல், ஜெல்லாக திடமுறுகிறது. இக்கரைசலுடன் பிஸ்அக்ரிலமைடு சேர்ப்பு, குறுக்கு பிணைப்பை ஏற்படுத்தி சலிப்புஜெல் தோன்றுகிறது. மூலக்கூறுகளின் தனிமைப்பாடு இச்சலிப்புகளைப் பொறுத்ததாக உள்ளது. இச்சலிப்பின் அளவு இவ்வேதிப் பொருட்களின் அளவினை ஒழுங்குபடுத்துவதால் கட்டுப்படுத்த முடியும்.

SDS ஆனது எதிர்மின்னேற்றம் கொண்ட கட்டி (அயனிக்கட்டி) புரதங்களின் மின்னேற்ற விளைவினை இது மட்டுப்படுத்துகிறது. எனவே தனிமைப்படுத்துவதில் உருவளவு மட்டுமே தீர்மானிக்கும் காரணி ஆகிறது. SDS ஆன புரத மூலக்கூறுகளின் நீர்விரும்பா பகுதிகளுடன் ஒட்டிக்கொண்டு அவை மடிப்பு அவிழ்ந்து

பாலிபெப்டைடு சங்கிலிகளாக நீட்டி அடைகின்றன. புரத மூலக்கூறுகளின் நேர்மின் ஏற்ற விளைவினை இந்த SDS தள்ளுபடி செய்கிறது. இருதுணை அலகுகளுக்கு இடையேயுள்ள புரத புரத S - S இணைமானம், மெர்கா ப்டொளத்தனால் சேர்ப்பால் தகர்க்கப்படுகிறது. புரதங்களைத் தனிமைப்படுத்துவதற்கும் மூலக்கூறு எடையினை தீர்மானிப்பதற்கும் SDS - PAGE பயன்படுகிறது.

இருப்புக் கரைசல் தயாரிப்பு (Preparation of Stock Culture)

1) 200மி.லி. வாலைவடிநீரில் 44.4கி. அக்ரிலமைடும் 1.2கி. பிஸ் - அக்ரிலமைடும் சேர்த்து 22.2% அக்ரிலமைடு தயாரிக்கப்படுகிறது. 2) 80மி.லி. நீரில் 6.06கி. டிரிஸ் கரைத்து இதனுடன் பி.ஹெச் 6.8 நிலை கொண்ட அடர் ஹைட்ரோ குளோரிக் அமிலம் சேர்த்து 100 மி.லி. நீரால் சரிகட்டி மேற்றஜெல் வினைதாங்கி தயாரிக்கப்படுகிறது. 3) 80மி.லி. நீரில் 18.2கி. டிரிஸ் சேர்த்து 100மி.லி நீரில் தயாரித்து பி.ஹெச் 8.8க்கு சரிகட்டிப் பெறுவது அடி ஜெல் வினைதாங்கி ஆகும். (4) 100மி.லி நீரில் 100 மி.கி. அமோனியம் பர்சல்பேட் பெறப்படுகிறது (5) 10 மி.லி. நீரில் ஒரு கிராம் SDS சேர்த்து 60°செ. வெப்பநிலையில் சூடுபடுத்தி பெறப்படுவது 10% SDS ஆகும் (6) ஒரு லிட்டர் நீரில் 6கி. டிரிஸ் + 28.8கி. கிளைசின் + 10% SDSன் 10 மி.லி.யும் சேர்க்கப்படுகின்றன. பி.ஹெச் 8.8யைக் கொண்டு வருவதற்கு HCL சேர்க்கக்கூடாது (7) 1.52 கி.டிரிஸ் + 10 மி.லி. SDS கரைசல் + 4 மி.லி. கிளிசிரால் சேர்த்து கலக்கப்படுகிறது. HCL சேர்த்து பி.ஹெச் 6.8க்கு சரிகட்டப்படுகிறது. இதன் பின்பு மெர்காப்டொ எத்தனால் 2 மி.லி. சேர்க்கப்படுகிறது. பின்பு இது 20 மி.லி. நீர் சேர்த்து அதிகரிக்கப்படுகிறது. இதன் பின்பு ப்ரொமொபினால் நீலம் 2 மி.கி. அளவில் சேர்க்கப்படுகிறது. ஆய்வுக்காக இக்கரைசலின் ஒரு கொள்ளளவை புரதக் கரைசலின் நான்கு கொள்ளளவுகளுடன் சேர்க்கப்படுகிறது. இவ்விதமாகப் பெறப்படும் கரைசல் புரத இயல்பகற்றக் கரைசல் என அழைக்கப்படுகிறது (8) கூமாஸ்ஸி பகட்டு நீலம் - R - 2.5கி, மெத்தனால் 250 மி.லி., க்ளேசியல் அசிட்டிக் அமிலம் 46 மி.லி. சேர்த்து 1000 மி.லி. நீரில் கலந்து தயாரிக்கப்படுவது புரதத்திற்கான



கூமாஸ்ஸி நீலக்கரை என அழைக்கப்படுகிறது. (9) க்ளேசியல் அசிட்டிக் அமிலம் 75 மி.லி., மெத்தனால் - 250 மி.லி., நீர் 675மி.லி. ஆகிய கலந்து தயாரிக்கப்படுவது கறையகற்று கரைசல் என அழைக்கப்படுகிறது. அக்ரிலமைடு கரைசல் என

அழைக்கப்படுகிறது. அக்ரிலமைடு கரைசல் 13.5மி.லி., நீர் - 1 மி.லி., அடி ஜெல் வினைதாங்கி - 5 மி.லி., 10% SDS - 0.2மி.லி., டெட்ராமீத்தைல் எத்திலின்டையமின் (TEMED) - 20 மி.லி., அமோனியம் பர்சல்பேட் - 0.1மி.லி., ஆகியன ஒன்றாகக் கலந்து தனிமைப்படுத்தும் ஜெல் (Separating gel) தயாரிக்கப்படுகிறது.

கூம்படுக்கு ஜெல் (Stacking gel)

அக்ரிலமைடு கரைசல் - 2.7 மி.லி., நீர் - 12 மி.லி., மேல் ஜெல் வினைதாங்கி - 5 மி.லி., SDS - 0.2மி.லி., TEMED - 10 மி.லி., அமோனியம் பர்சல்பேட் - 0.1 மி.லி. ஆகியன ஒன்று சேர்த்து ஸ்டாக்கிங் ஜெல் தயாரிக்கப்படுகிறது.

கருவி அமைவித்தல்

நிமிர்வு எலெக்ட்ரொபொரெஸிஸ் கருவியானது இருவினை தாங்கிகள், இரு எலெக்ட்ரோடுகள், ஒரு சறுக்கி (Slides) ஒரு ஆற்றல் பொறி (Power Pack) ஆகியனவற்றை உள்ளடக்கியுள்ளது. ஒரு வினைதாங்கித் தொட்டி அடித்தொட்டி என அழைக்கப்படுகிறது. இவை இரண்டும் கண்ணாடியால் தயாரிக்கப்பட்டவை. அடித்தொட்டி செவ்வக வடிவில் உள்ளது. இதன் உயரம் 30 செ.மீ ஆகும். இத்தொட்டியின் ஒருபக்கத்தில் சறுக்கி மேல்நோக்கியும் அடிநோக்கியும் இயங்குவதற்காக ஓடுவி (runner) ஒன்று உள்ளது. அடியில், ஒரு செ.மீ உயரத்தில் இடைவெளியமைவை (Spacer) பற்றிக் கொள்ள உயர்ந்த இரு கண்ணாடி ஏற்றச் சட்டங்கள் (mounts) உள்ளன. மேல்தொட்டிகள் ஒரே மாதிரியான உருவளவில் உள்ளன. இவற்றின் உயரம் 5செ.மீ அல்லது 10செ.மீ இருக்கலாம். அடித்தொட்டியின் மட்டத்திற்கு மேலாக பக்கவாட்டில் இது அமைந்துள்ளது. அடித்தொட்டியினுள் சறுக்கி செருகப்பட்டால் இதன் மேற்பாகம் மேல்தொட்டியின் அடியே வருகிறது. இருகண்ணாடி தட்டுகளை சறுக்கி உள்ளடக்கி உள்ளது. இவ்விரு தட்டுகளுக்கு இடையே ஓரம் நெடுக இடைவெளியமைவு தட்டு உள்ளது. விடாப்பிடி (விடாக்கண்டர்) பற்றுக் கருவிகளால் (Building Clips) இவ்வமைப்பு

ஒன்றாக நிலை நிறுத்தப்பட்டுள்ளது. தொட்டியினுள் சரியாக பொருத்தும் உருவளவில் இந்த சறுக்கி உள்ளது. ஜெல்லினை பிடித்துக் கொள்வதற்கு ஒரு அறையினை கண்ணாடித் தட்டுகளுக்கு இடையே உள்ள இடைவெளி உருவாக்குகிறது. அடித்தொட்டியின் அடிமட்டத்தில் கிடைமட்டமாக ஒரு எலெக்ட்ரோடு வைக்கப்பட்டுள்ளது. மேல்தொட்டியின் அடிமட்டத்தில் இன்னொரு எலெக்ட்ரோடு வைக்கப்பட்டுள்ளது. இவ்விரு எலெக்ட்ரோடுகளும் போதுமான மின்சாரம் சப்ளை தருவதற்கு வேண்டிய ஆற்றல் பொறியுடன் இணைக்கப்பட்டுள்ளது.

செய்முறை

(1) சுத்தமான உலர்வான இரு கண்ணாடி தட்டுகள் எடுத்துக் கொள்ளப்படன. தட்டுகளின் மூன்று பக்கங்களின் இடையே கூடவே இடைவெளியமைவு தட்டு வைக்கப்பட்டுள்ளது. இந்த அமைவிப்பு விடாப்பிடி கல்வதலால் ஒன்றாக பிடிபட்டுள்ளது. பெட்ரோலியம் ஜெல்லி அல்லது 2% அகார் அல்லது சிலிகான் கிரீஸ் இடைவெளியமைவின் விளிம்பினைச் சுற்றிலும் பரப்பப்/ தடவப்பட்டுள்ளது. இந்த அமைவித்தலுக்கு சறுக்கி என்று பெயர்.

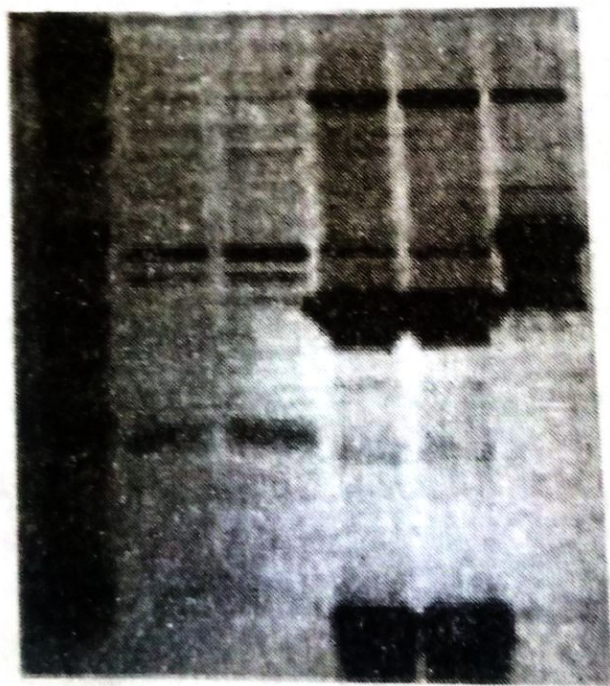
(2) தனிமைப்படுத்தும் ஜெல் தயாரிக்கப்பட்டு இரு கண்ணாடித் தட்டுகளுக்கு இடையே உள்ள இடைவெளியில் ஊற்றப்படுகிறது. ஜெல்லின் மீது சிறிதளவு நீர் ஊற்றப்படுகிறது. பின்பு, பலபடியாக்கத்திற்காக, இந்த ஜெல் 30-60 நிமிடங்களுக்கு அப்படியே வைக்கப்படுகிறது (3) கூம்பு ஜெல் (Staking gel) தயாரிக்கப்படுகிறது. தனிமைப்படுத்தும் ஜெல்லிலிருந்து நீர் நீக்கப்படுகிறது. பின்பு, இந்த ஜெல் தேங்கு நிற்கும் திரும்பவும் ஒருமுறை கூம்பு ஜெல்லாக கழுவப்படுகிறது. சறுக்கியிலுள்ள தனிமைப்படுத்தும் ஜெல்லின் மீது இக்கூம்பு ஜெல் ஊற்றப்படுகிறது. ஒரே அளவிலான ஜெல் ஒட்டுக்களி (Gel Slab) ஏற்படுத்துவதற்கு பியூட்டனால் சிறுதுளிகள் சேர்க்கப்படுகின்றன. பின்பு, வடிதாள் உதவியால் ஒட்டாப்பு மூலமாக இந்த ஜெல் உலர்விக்கப்படுகிறது. இப்பொழுது கூம்பு ஜெல்லினுள் வாரகருவி (comb) நுழைக்கப்படுகிறது. (4) இசுஜெல் 30 - 60 நிமிடங்களுக்கு

திடமேறுவதற்காக அனுமதிக்கப்படுகிறது (5) குழி (கிணற்று) வடிவம் பிறழாதவாறு மிகக் கவனமாக இந்த வார் கருவி அகற்றப்படுகிறது. (6) அடித்தொட்டியில் சறுக்கி நிலை நிறுத்தப்படுகிறது. எலெக்ட்ரொபோரெசிஸ் வினைதாங்கியின் போதுமான அளவு தொட்டியினுள் ஊற்றப்படுகிறது. (7) SDS வினைதாங்கி மூலம் புரத மாதிரி 3 நிமிடத்திற்கு கொதிக்க வைக்கப்படுகிறது. இயல்பு குன்றிய இப்புரத மாதிரி, வெவ்வேறு அடர்வுகளில் கிணற்றுனுள்ளே ஏற்றப்படுகிறது. தரநிலை குறியிடுவிகள் மூலம் சில கிணறுகள் நிரப்பப்படுகின்றன. மூலக்கூறு இயக்கங்களைக் கண்டறிவதற்கு ஒரு குறியிடுவியாக ஒவ்வொரு கிணற்றிலும் ப்ரொமொ பீனால நீலம் சேர்க்கப்படுகிறது. (8) மேற் ஜெல் வினைதாங்கியின் மூலம் மேற்தொட்டி நிரப்பப்படுகிறது (9) மின்னாற்றல் பொறியுடன் எலெக்ட்ரோடுகள் இணைக்கப்படுகின்றன. 80 V அளவில் மின்சாரம் அனுமதிக்கப்படுகிறது (10) தனிமைப்படுத்தும் ஜெல்லின் அடிப்புறப்பரப்பிற்கு மேல் 1 செ.மீக்கு மாதிரிகள் அடையும்பொழுது மின்ஆற்றல் நிறுத்தப்படுகிறது. (11) அறையிலிருந்து ஸ்லைடர் அகற்றப்படுகிறது. கவனமாக ஜெல் அகற்றப்பட்டு 2 மணிநேரம் கறையூட்டியில் வைக்கப்படுகிறது. பின்பு இந்த ஜெல் கறையகற்றியால் கழுவி தெளிவாக எடுக்கப்படுகிறது. இப்பொழுது இந்த ஜெல்லில் தெளிவாக நீலப் பட்டைகள் பார்க்க முடியும். உறுதிப்படுத்துவதற்காக, தரநிலைகளுடன் இப்பட்டைகள் ஒப்பிடப்படுகின்றன.

பிரயோகிப்புகள்

புரதங்களின் உருவளவையும் பொருண்மையும் பொறுத்து இவற்றினை தனித்தனியே பிரிப்பதற்கு SDS - PAGE பயன்படுகிறது. (2) புரதங்களின் மூலக்கூறு எடையினை தீர்மானிப்பதற்கு இந்நுட்பம் பயன்படுகிறது. (3) பற்கூட்டுப் புரதங்களின் வெவ்வேறு துணை அலகுகளை தனிமைப்படுத்துவதற்கு இம்முறை பயன்பட்டு வருகிறது. (4) உயிரியற் மாதிரியில் உள்ள ஆயிரக்கணக்கான புரதங்களைத் தீர்மானிப்பதற்கு இந்நுட்பம் பயன்படுகிறது.

SDS - PAGE என்ற முட்டும் புரதங்களின் உருவளவைப் பொருத்து தனித்து பிரிப்பதற்கு உதவிகரமாக உள்ளது. சோடியம் டொடிசில் சல்பேட் என்ற வேதிப்பொருளின் இயல்பை அகற்றி ஒத்த புரதங்களை துணை அலகுகளாக ஆக்குகிறது. பாலிஆக்ரிலமைடு ஜெல் வழியே எலெக்ட்ரோபோரேஸிஸ் நிகழும் பொழுது புரதப்பொருள் இயல்பு நீங்குகிறது. எனவே புரதங்கள் ஆல்கலைன் pH அருகில் உள்ள ஆனோடுநோக்கி இப்புரதங்கள் பயணிக்கிறது. பெரும் உருவளவுப் புரதங்களைக் காட்டிலும் சிறிய உருவளவு புரதங்கள் துரிதமாக நகர்கின்றன. ஒவ்வொரு புரத அலகும் ஜெல்லில் ஒரு நிறமான பட்டையைத் தோற்றுவிக்கிறது. ஒவ்வொரு பட்டைகளும் புரதங்களின் அடர்வைப் பொருத்ததாக உள்ளன.



SDS - PAGE