උසස් පෙළ ජීව විද්‍යාව
නව නිර්දේශය සඳහා

අණුක ජීව විද්‍යාව සහ ප්‍රතිසංයෝජිත DNA තාක්ෂණය

Molecular Biology and Recondinant Technology

(7 වන ඒකකය)

මහාචාර්ය
හිරාන් අමරසේකර
B.Sc.(USJ) Ph.D. (Wales) F.I.Biol (Sri Lanka) C.Biol

Student Lanka Publication

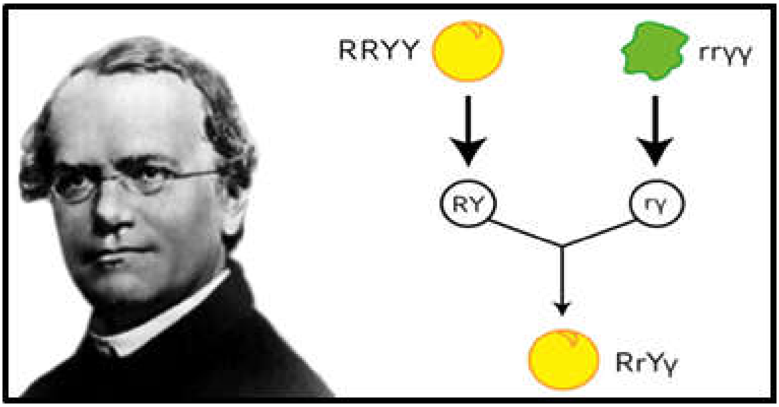
අන්තර්ගතය

1. වර්ණදේහවල ව්‍යුහ නිර්මාණය
2. DNA ප්‍රතිවලිතවීම
3. ජාන සහ ඒවා ක්‍රියාකරන ආකාරය
4. විකෘති
5. ජාන තාක්ෂණය
6. DNA විශ්ලේෂණය
7. කෘෂිකර්මාන්තයේදී GMO වල භාවිතයන්
8. ජෛව සුරක්ෂිතතාව පිළිබඳව කාටගිනා ගිවිසුම
9. ශ්‍රී ලංකාවේ ජාතික ජෛව සුරක්ෂිතතා රාමුව

1

අණුක ප්‍රවේණික විද්‍යාව සහ ප්‍රතිසංයෝජිත DNA තාක්ෂණයේ ඉතිහාසයෙන් බිඳක්

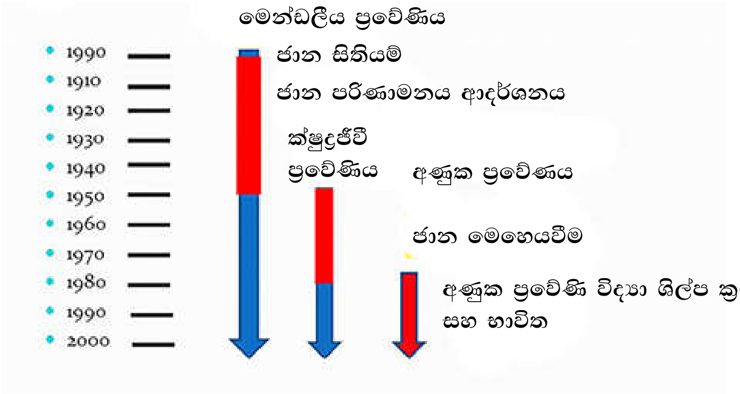
ඩෝල්ටන් 1800 දී පරමාණුව සොයා ගැනීමත් සමඟ රසායන විද්‍යාව ශීඝ්‍රයෙන් දියුණු වූ අතර භෞතික ලෝකය පිළිබඳව භෞතික සහ රසායන විද්‍යාවේ මූලික සොයාගැනීම් රැසක් සිදුවිය.



රූපය 1.1 - ග්‍රෙගර් මෙන්ඩල්

1856 දී මෙන්ඩල් (Mendal) පරීක්ෂණ සමග ප්‍රවේණි විද්‍යාව ආරම්භ වූ අතර පසුව 1900 දී මෙන්ඩල් ප්‍රවේණික පරීක්ෂණ නැවත සොයා ගැනීමත් සමඟ ජානය නැමති සංකල්පය ඉදිරිපත් විය. ප්‍රවේණි විද්‍යාව ශීඝ්‍රයෙන් දියුණු වන්නට පටන්ගත්තේ ඉන් පසුවය.

පසුව 1953 දී ජේම්ස් වොට්සන් සහ ෆ්‍රැන්සිස් ක්‍රික් විසින් DNA අණුක ව්‍යුහය සොයාගැනීමත් සමග අණුක ජීව විද්‍යාව ශීඝ්‍ර ලෙස දියුණු විය. පසුව ජාන වෙනස් කිරීම සහ ප්‍රයෝජනවත් නිෂ්පාදන ලබාගැනීම සඳහා ප්‍රතිසංයෝජිත DNA තාක්ෂණය දියුණු විය.



රූපය 1.2 1900 සිට ප්‍රවේණි විද්‍යාවේ ඉතිහාසය

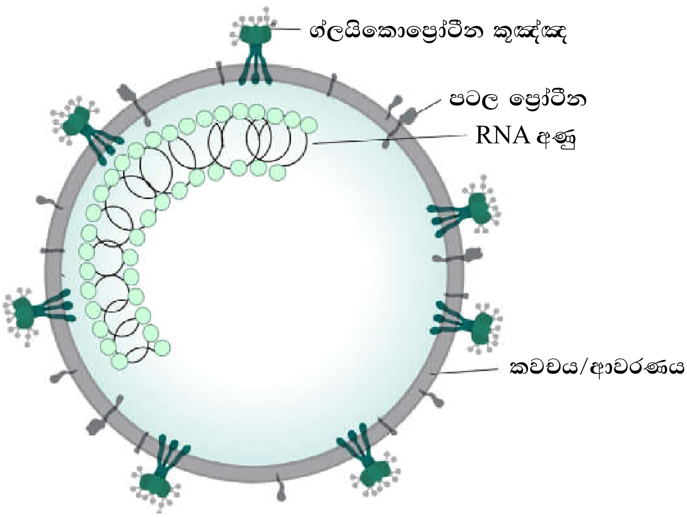
2

වර්ණදේහවල ව්‍යුහ නිර්මාණය

ප්‍රවේණික ද්‍රව්‍ය

බොහෝ ජීවීන්ගේ ප්‍රවේණික ද්‍රව්‍ය ලෙස ඇත්තේ DNA ය. සමහර වෛරස වල (ඉන්ෆ්ලුවෙන්සා වයිරස, HIV, COVID -19 කොරෝනා වයිරස) ප්‍රවේණික ද්‍රව්‍ය ලෙස RNA ඇත.

COVID -19 වයිරසයෙහි මධ්‍ය RNA අණුවක් ඇති අතර, එය කවචයකින් වටවී ඇත. එම කවචයේ ග්ලයිකොප්‍රෝටීන පිහිටා ඇත.



රූපය 1.2 Covid - 19 වයිරසයේ ව්‍යුහය

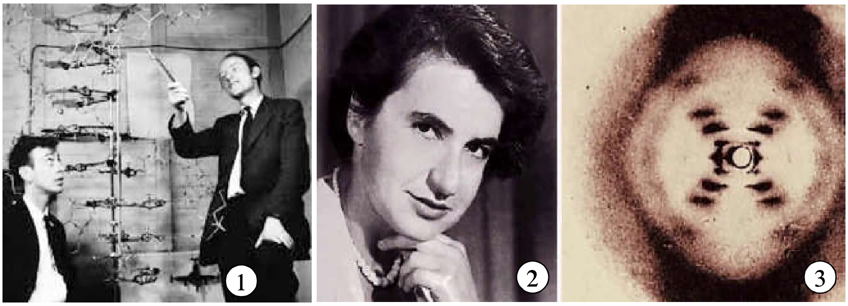
DNA ප්‍රවේණික ද්‍රව්‍ය ලෙස වැදගත්වීමට හේතු

1. නිවැරදිව ස්ව ප්‍රතිවලිතවීමට DNA වලට ඇති හැකියාව
2. ප්‍රවේණික තොරතුරු ගබඩා කිරීමට සහ ප්‍රකාශ කිරීමට ඇති හැකියාව
3. පරම්පරාවෙන් පරම්පරාවට තොරතුරු සම්ප්‍රේෂණය කිරීමේ හැකියාව

DNA වල ද්විත්ව හෙලික්සියේ ආකෘතිය

1. ජේම්ස් වොට්සන් සහ ප්‍රැන්සිස් ක්‍රික්, රොස්ලන්ඩ් ප්‍රැන්ක්ලින් විසින් ලබාගත් එක්ස් කිරණ ස්ඵටික විද්‍යාව (x-ray crystallography) මගින් DNA සඳහා ද්විත්ව හේලික්සිය ආකෘතිය යෝජනා කරන ලදී.

2. DNA අණුවෙ අණු වර්ග 6 (පොස්පේට් කාණ්ඩ, ඩීඔක්සි රයිබෝස් සීනි අණු, ATGC යන භෂ්ම) DNA අණුවේ සකස් වී ඇති ආකාරය, ඒ නිසා DNA වලට ලැබී ඇති ලක්ෂණ මෙම ආකෘතියෙන් විස්තර කෙරේ.



1. වොට්සන් සහ ක්‍රික් ඔවුන්ගේ ආකෘතිය සමග 2. රොස්ලන්ඩ් ප්‍රැන්ක්ලින්
3. ප්‍රැන්ක්ලින් ලබාගත් DNA වල X කිරණ ස්ඵටික විද්‍යා ඡායාරූපය

රූපය 2.2

3. **ද්විත්ව හේලික්සිය ආකෘතියේ මූලික ලක්ෂණ**
   1. DNA, නියුක්ලියෝටයිඩ බහු අවයවීකරණයෙන් සෑදුණ පොලි නියුක්ලියෝටයිඩවලින් සෑදී ඇත.
   2. DNA වල ප්‍රතිසමාන්තර පොලි නියුක්ලියෝටයිඩ රැහැන් දෙකක් ඇත.
   3. මෙය ද්විත්ව හේලික්සීය වේ.
   4. එහි සිරස් දඬු සීනි සහ පොස්පේට්වලින්ද හරස් පටි භෂ්ම යුගල්වලින් ද සෑදී ඇත.

4. පිරිමිඩීන භෂ්මයක් පියුරීන භෂ්මයක් සමග හයිඩ්‍රජන් බන්ධන දෙකකින් (A= T) හෝ තුනකින් (G ≡ C) බැඳී ඇත.

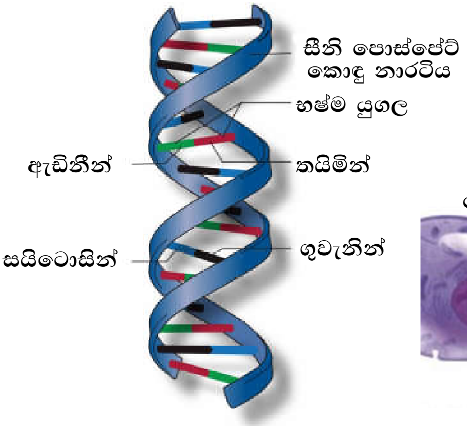
5. ටී. එච්. මෝගන් සහ ඔහුගේ කණ්ඩායම සිදුකළ පරීක්ෂණ අනුව වර්ණදේහ සෑදී ඇත්තේ DNA සහ ප්‍රෝටීන්වලින් බවත්, එම වර්ණදේහවල ජාන පිහිටන බවත් පෙන්වා දෙනු ලැබිණි.

වර්ණදේහවල ව්‍යුහ නිර්මාණය

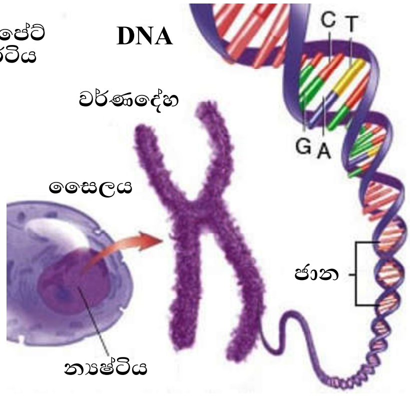
1. DNA අණු ප්‍රාග්න්‍යෂ්ටික සෛලවල සෛල ප්ලාස්මයේ න්‍යෂ්ටික ප්‍රදේශයේ/ නියුක්ලියෝඩයේ/ න්‍යෂ්ඨාභයේ පිහිටන අතර යූකැරියෝටා සෛලවල ඒවා න්‍යෂ්ටියේ පිහිටයි.

රූපය 2.3 මූලික සෛල සංවිධාන දෙකෙහි න්‍යෂ්ටික ද්‍රව්‍ය පිහිටීම

2. ප්‍රාග්න්‍යෂ්ටික සහ සූන්‍යෂ්ටික DNA දෙවර්ගයේම වර්ණදේහ ලෙස හැඳින්වුවද සත්‍ය වර්ණදේහ ඇත්තේ සූන්‍යෂ්ටිකයන්ගේ පමණි.
3. ප්‍රාග් න්‍යෂ්ටිකයන්ගේ (බැක්ටීරියා) වර්ණදේහය ද්විපට චක්‍රීය DNA අණුවකින් සහ ඒ ආශ්‍රිත ප්‍රෝටීන අණු කිහිපයකින් සෑදී ඇත.
4. සූන්‍යෂ්ටිකයන්ගේ වර්ණදේහ රැසක් ඇති අතර එක් වර්ණදේහයක ද්විපට රේඛීය DNA අණුවක් සහ ඒ ආශ්‍රිත හිස්ටෝන සහ වෙනත් ප්‍රෝටීන පිහිටයි.
5. වර්ණදේහයක විශාලත්වය සැලකූ විට එක් සෛලයක අති විශාල DNA ප්‍රමාණයක් අඩංගු වේ.
6. ප්‍රාග්න්‍යෂ්ටිකයන්ගේ නියුක්ලියෝඩයේ සහ සූන්‍යෂ්ටිකයන්ගේ න්‍යෂ්ටියේ ඇති අතිවිශාල DNA ප්‍රමාණය (ගොනෝමය) අන්තර්ගත කරගැනීම සඳහා DNA ඇසිරීම (DNA Packaging) වැදගත් වේ.



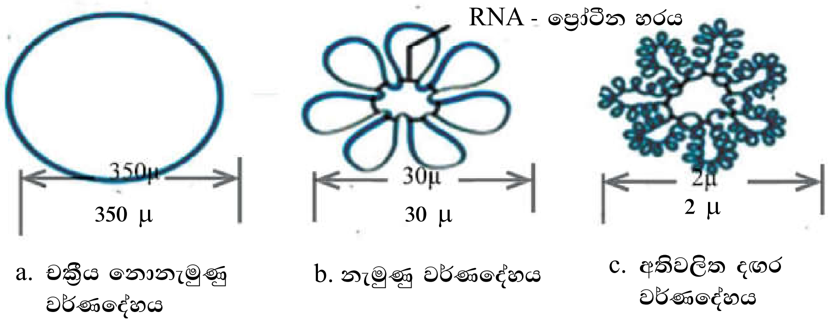
රූපය 2.4 - **DNA** අණුව



රූපය 2.4 - සෛල තුළ **DNA** ඇසිරී ඇති අන්දම

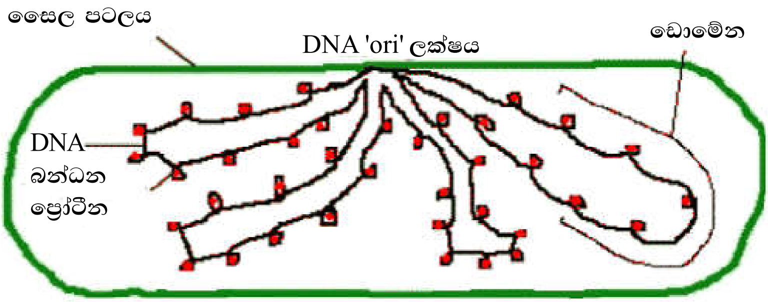
ප්‍රාග්න්‍යෂ්ටි (ප්‍රෝකැරියෝටා) DNA ඇසිරීම (Packaging of DNA)

1. ප්‍රෝකැරියෝටාවන්ගේ DNA ඇසිරීම සඳහා එම DNA සමග බැඳුණු ප්‍රෝටීන ද උපකාරී වේ.
2. ප්‍රෝටීන අණු මගින් DNA අණු නමුම් සහ පුඩු බණ්ඩ බවට පත්කරයි. පසුව ඒවා තවදුරටත් ඇඹරීමෙන් අතිවලිත දඟර (Super Coil) බවට පත්වේ. මෙය එම DNA සෛලයේ නියුක්ලියෝඩ න්‍යෂ්ටික ප්‍රදේශයේ සාන්ද්‍රණය කිරීම සඳහා උපකාරී වේ.
3. ඉලෙක්ට්‍රොන අන්වීක්ෂ යටතේ මෙම අතිවලිත දඟර ඩොමේන (Domain) නමැති ඒකක ලෙස හඳුනාගත හැකි වේ.
4. මෙම අතිවලිත පුඩු මධ්‍ය ප්‍රදේශයේ පිහිටි RNA සහ ප්‍රෝටීනවලින් යුත් හරයකට (Core) බැඳී ඇත.
5. එම හරය මගින් වර්ණදේහ ප්ලාස්ම පටලයටද සම්බන්ධ වේ.
6. මෙවැනි අතිවලිත දඟරවල ඡේදන ඇතිකිරීමෙන් ඒවා ලිහිල් කළ හැකි වේ. නමුත් වර්ණදේහය එක් පැත්තකින් පටලයට සහ අනික් පැත්තෙන් RNA ප්‍රෝටීන හරයට සම්බන්ධව ඇති බැවින් මේවායේ භ්‍රමණය වැළකී ඇත.



රූපය 2.5 - ප්‍රාග්න්‍යෂ්ටික වර්ණදේහවල නැමීම් හා අතිවලිතවීම මඟින් සුසංහිත වීම

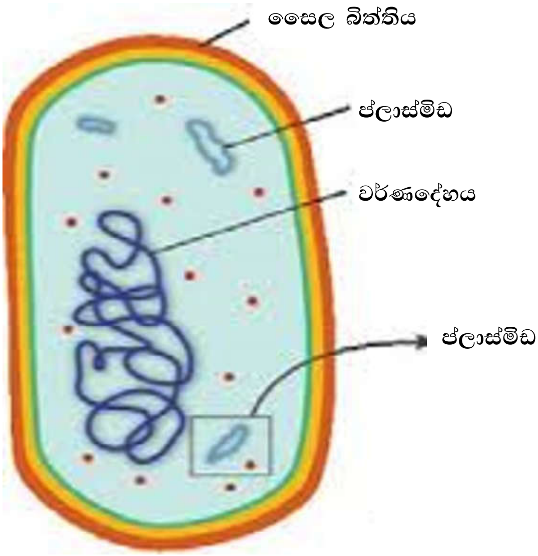
7. මෙම කැපුම් නිසා අදාළ එක් එක් ඩොමේනයක් පමණක් ස්වාධීනව ලිහිල් කළ හැකි වේ.
8. මෙසේ නිදහස් කිරීම ප්‍රෝටීන සංස්ලේෂණයේදී නිශ්චිත ජානයක් ප්‍රතිලේඛනය (පිටපත්) කිරීම සඳහා වැදගත් වේ.
9. RNA ඉවත් වීම පුඩුවල ස්වාධීනත්වය නැතිකිරීම සඳහා හේතු වේ.



රූපය 2.6 - ප්‍රාග්න්‍යෂ්ටික සෛලයක ඩොමේන ප්ලාස්ම පටලයට සවි වී ඇති අයුරු

ප්ලාස්මිඩ (Plasmids)

බැක්ටීරියා (ප්‍රොග්න්‍යෂ්ටික) සෛලවල ප්‍රධාන වෘතාකාර DNA වලට අමතරව සෛල ප්ලාස්මයේ පිහිටන කුඩා වෘතාකාර ප්‍රවේණික ප්‍රදේශ (වෘතාකාර DNA) ප්ලාස්මිඩ ලෙස හැඳින්වේ. මේවා ද දඟර සහ අතිවලිත දඟර බවට පත්වී ඇත.



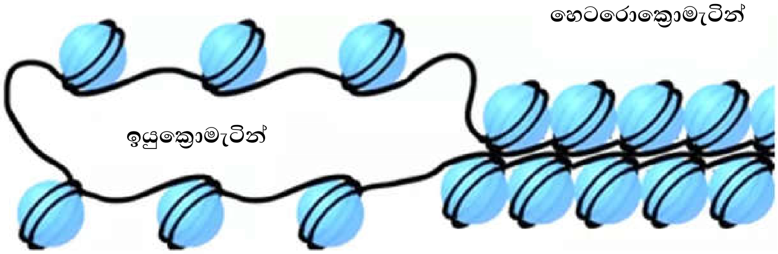
රූපය 2.7 - ප්‍රාග්න්‍යෂ්ටික සෛලයක DNA පිහිටීම

සූන්‍යෂ්ටික වර්ණදේහ ඇසිරීම

1. සූන්‍යෂ්ටික වර්ණදේහ විශාල හිස්ටෝන ප්‍රෝටීන ප්‍රමාණයක් සමග සම්බන්ධ වී එම DNA න්‍යෂ්ටිය තුළ සංවිධානය වී පවතී.
2. මෙම DNA - ප්‍රෝටීන සංකීර්ණය ක්‍රොමැටින් ලෙස හැඳින්වේ.
3. මෙම ක්‍රොමැටින් ආකාර දෙකකි.

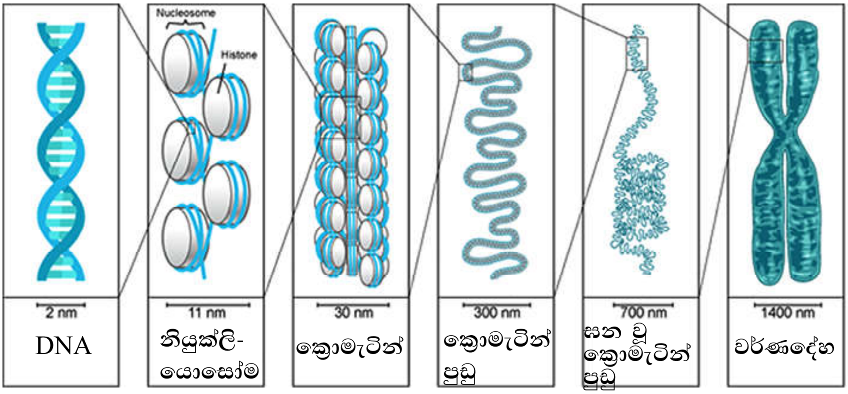
a. ඉයුක්‍රොමැටින් (සත්‍ය ක්‍රොමැටින්) Euchromatin - මෙම ක්‍රොමැටින් ලිහිල්ව ඇසිරී ඇත. ජාන බහුලව පිහිටයි. මේවා ප්‍රතිලේඛනය සඳහා සක්‍රිය වේ.

b. හෙටරොක්‍රොමැටින් Heterochromatin - මෙම ක්‍රොමැටින් තදින් ඇසිරී ඇත. නියුක්ලියෝටයිඩ අනුපිළිවෙළ බොහෝවිට අක්‍රියව පවතී. මේවා ජාන යාමනය, අපිජාන ආවේණිය සහ වර්ණදේහ ස්ථාවරත්වය ආරක්ෂා කිරීමට උපකාරී වේ.



රූපය 2.8 - සූන්‍යෂ්ටික වර්ණදේහයක ඇති ක්‍රොමැටින් ආකාර ඇත

සූන්‍යෂ්ටික DNA ඇසිරීමේ පියවර

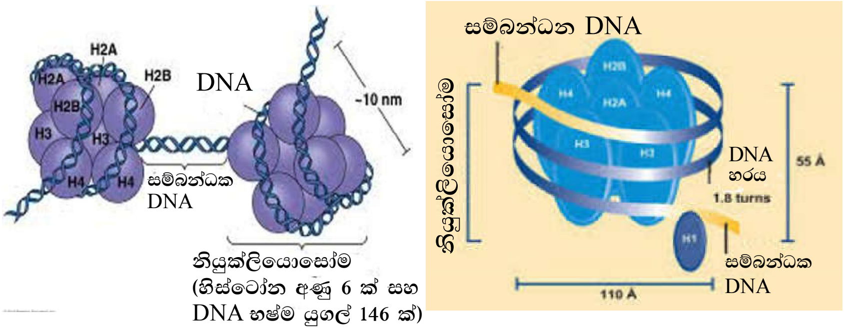


රූපය 2.9 - සූන්‍යෂ්ටික DNA ඇසිරීමේ පියවර හතර

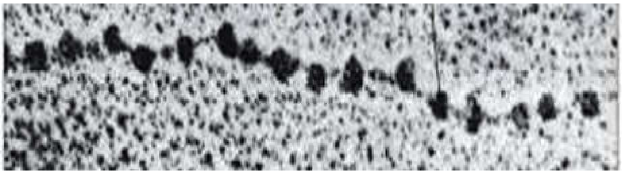
DNA ඇසිරීම මට්ටම් 4 කින් සිදුවේ.

1. වන මට්ටම

1. මෙහිදී DNA ද්විත්ව හෙලික්ස සංකීර්ණ හිස්ටෝන ප්‍රෝටීන අණු 8 ක් වටා වෙළේ.
2. මෙය මාලයක පබළු ලෙස දිස්වන අතර එම ප්‍රදේශ 10 nm විශාලත්වයක් සහිත නියුක්ලියෝසෝම ලෙස හැඳින්වේ
3. නියුක්ලියෝසෝමයක පබළු සම්බන්ධක DNA (Linker DNA) නමැති DNA කොටස් මගින් සම්බන්ධව ඇත.



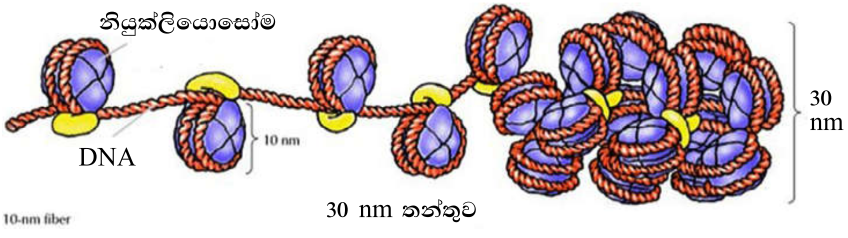
රූපය 2.9 - නියුක්ලියොසෝම පබළු සාදමින් සම්බන්ධක මගින් එකිනෙක සම්බන්ධ වීම (1 මට්ටම)



රූපය 2.10 - නියුක්ලියොසෝම (පබළු) සහ සම්බන්ධක **DNA** රූපය (ඉලෙක්ට්‍රෝන අන්වීක්ෂීය ඡායාරූපයකි.)

2 වන මට්ටම

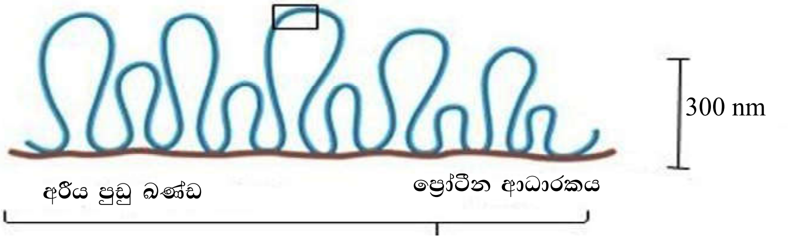
1. මෙහිදී නියුක්ලියෝසෝම ඇඹරී සර්පිලාකාර රටාවකට පිළියෙල වී ක්‍රොමැටින් තන්තු ඇතිවේ.
2. 10 nm විශාලත්වයක් සහිත නියුක්ලියෝසෝම මෙහිදී 30 nm ක්‍රොමැටින් බවට පත්වේ.



රූපය 2.11 - 30 nm තන්තුව ඇතිවීම (2 මට්ටම)

3 වන මට්ටම

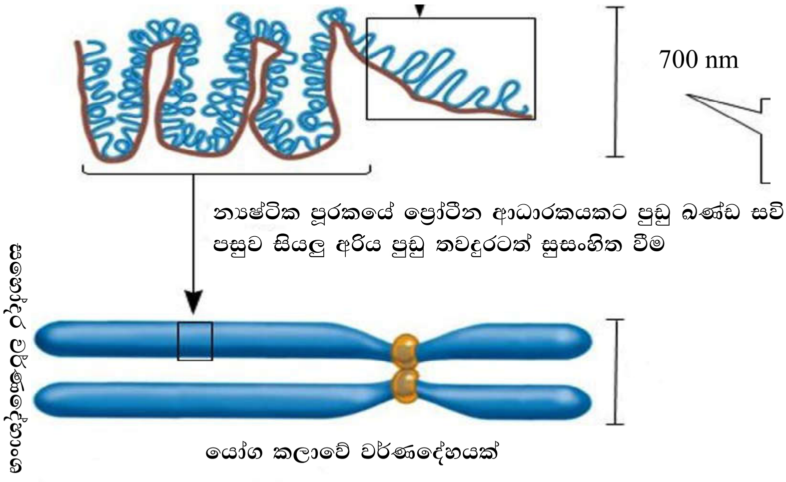
මෙම මට්ටමේදී 30 nm ක්‍රොමැටින් තන්තුව පුඩු ඛණ්ඩ (Looped Domains) නමැති ඒකක බවට පත්වේ. එම පුඩු ඛණ්ඩ ප්‍රෝටීනවලින් සැදුණු ආධාරකයකට (Scaffold) සම්බන්ධ වේ. මෙහි ඝනකම 300 nm වේ.



රූපය 2.12 - පුඩු ඛණ්ඩ ඇතිවීම (3 මට්ටම)

4 වන මට්ටම

1. 4 වන මට්ටමේදී පුඩු සහිත ඒකක දඟර ගැසී නැමී වර්ණදේහයක ඇති වර්ණදේශාංශයක් බවට සන වේ.
2. අනූනනයේ යෝග කලාවේදී වර්ණදේහයක ඇති වර්ණදේහාංශවල ප්‍රතිවලත වූ DNA අණුව බැගින් පිහිටයි
3. වර්ණදේහාංශයක ඝනකම 700 nm පමණ වේ.
4. වර්ණදේහයක වර්ණදේහාංශ (DNA අණු) දෙකක් ඇති අතර එහි ඝනකම 1400 nm වේ.



රූපය 2.13 - පුඩු ඛණ්ඩ සුසංහිතව ඇසිරී වර්ණදේහ සෑදීම