උසස් පෙළ නව ජීව විද්‍යා පාඨමාලාව

2020 - 2021 උසස් පෙළ සඳහා

07 වැනි ඒකකය

ශ්‍රී ජයවර්ධනපුර විශ්වවිද්‍යාලයේ
වන විද්‍යා හා පාරිසරික විද්‍යා අධ්‍යයනාංශයේ

මහාචාර්ය හිරාන් අමරසේකර

BSc. (USJ), PhD. (Wales),
F.I.Biol (Sri Lanka) C.Biol.

t.me/hiranbilology

ඔස්සේ ජීව විද්‍යා අන්තර්ජාල පිටුවට යොමුවන්න.

අණුක ජීව විද්‍යාව සහ ප්‍රතිසංයෝජිත DNA තාක්ෂණය

29 වැනි ලිපිය

DNA ඇතුළු කිරීමේ පද්ධති

පසුගිය සතියෙන්...

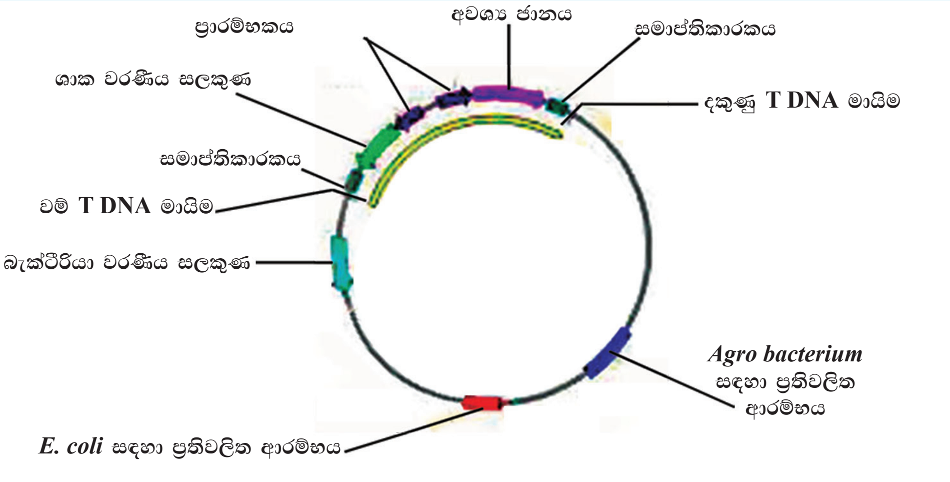
ජාන තුවක්කුව (Gene Gun)

1. මේ ක්‍රමයේ දී රත්රන් වැනි බැර ලෝහවල කුඩා අංශු, ප්‍රයෝජනවත් DNAවල පිටපත් විශාල සංඛ්‍යාවකින් ආලේප කර, ඒ අංශු ඉහළ ප්‍රවේගයකින් පරිණාමනය විය යුතු සෛලය තුළට විදියි (shoot).
2. මේ සඳහා ජාන තුවක්කුවක් භාවිත කෙරේ.

ජාන තුවක්කුව

Agro bacterium භාවිතයෙන් ජාන හුවමාරුව

1. ශාක ආසාදනය කළ හැකි පාංශු බැක්ටීරියාවක් වන *Agro bacterium*වල T1 ප්ලාස්මිඩය මගින් ශාකවලට ජාන ඇතුළු කිරීම මෙහි දී සිදු කෙරේ.
2. මෙම බැක්ටීරියාව ආසාදනය වූ විට ශාකය මත අර්බුදයක් සාදන අතර, බැක්ටීරියාව එය තුළ ජීවත් වෙමින් ශාකයට මුදුන් ගඩු රෝගය (crown gall disease) ඇති කරයි. අර්බුදය හෝ ගඩුවේ සෛල *Agro bacterium* අර්බුද ප්‍රේරණය කරන T1 ප්ලාස්මිඩයේ ඛණ්ඩයක් මගින් ප්‍රවේණික ව පරිණාමනය වී ඇත. එම ප්ලාස්මිඩයේ කොටසක් ශාක ජිනෝමයට මාරු වීමෙන් හුවමාරුක DNA හෙවත් T-DNA සාදයි.
3. T-DNAවල ගඩුවක් සෑදීමට ප්‍රේරණය කරන ජාන මෙන් ම ප්‍රචණ්ඩතාවට අදාළ ජාන ද ඇත.
4. විද්‍යාඥයන් T-DNAවලින් ප්‍රචණ්ඩ ජාන සහ බැක්ටීරියා ජාන බහුතරයක් ඉවත් කර, T-DNA වම් සහ දකුණු සීමා අනුක්‍රම දෙක අතර අවකාශය තුළට ප්‍රයෝජනවත් ජාන නිවේෂණය කරනු ලැබේ.
5. *Agro bacterium* ශාකවලට ආසාදනය කරවීමෙන් මෙම නිවිෂ්ට (ඇතුළු කළ) ජාන සහිත විකරණය කළ T-DNA ශාක සෛල තුළට මුදා හරී. ප්‍රචණ්ඩ ජාන T-DNAවලින් ඉවත් කොට ඇති බැවින් ශාක සෛල රෝගී තත්ත්වයට පත් නො වන අතර, මෙය T-DNA නිරායුධ කිරීමක් ලෙස හැඳින්වේ.



T1 ප්ලාස්මිඩ වාහකයක

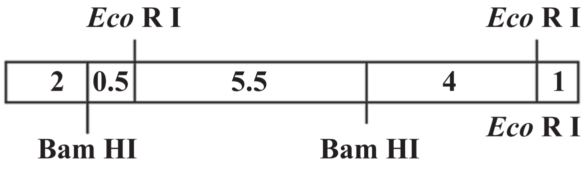
DNA විශ්ලේෂණය

1. DNA විශ්ලේෂණය මගින් ජීවීන් අතර ප්‍රවේණික සමානතා සහ අසමානතා හඳුනාගැනීමත්, පුද්ගලයන් හඳුනාගැනීමත් සිදු කළ හැකි ය.
2. වර්ගීකරණය රූප විද්‍යාත්මක ලක්ෂණ යොදාගනිමින් සිදු කරන විට, සීමිත ලක්ෂණ සංඛ්‍යාවක් පමණක් භාවිත බැවින් සාමාන්‍යයෙන් හඳුනාගත හැකි කුඩා ම කාණ්ඩය වන්නේ විශේෂයයි.
3. ලක්ෂණ වැඩි ප්‍රමාණයක් භාවිතයට ගත් විට උප විශේෂ, මාදිලි, ප්‍රභේද වැනි උප මට්ටම්වලට වර්ග කළ හැකි වේ.
4. ජීවීන් කුඩා කාණ්ඩවලට වෙන් කිරීමට වර්ගීකරණයේ දී ජෛව රසායනික ගුණාංග (එන්සයිම ක්‍රියා) ද යොදා ගනී.
5. ජීවියකුගේ ලක්ෂණ ප්‍රවේණිය සහ ඔවුන්ගේ පරිසරය එක් වූ සංකලනයක් මගින් පාලනය වන බැවින් මෙම ලක්ෂණ පරිසරය මත වෙනස් විය හැකි ය.
6. ජීවී කාණ්ඩ දෙකක් ප්‍රවේණික ව සමාන හෝ වෙනස් වන්නේ කෙසේ දැයි පිරික්සීම සිදු කළ හැක්කේ DNA මට්ටමින් පරීක්ෂා කිරීමෙන් පමණකි.
7. ජීවීන් අතර ප්‍රවේණික සමානතා සහ වෙනස්කම් හඳුනාගැනීම සඳහා විවිධ DNA විශ්ලේෂණ ශිල්ප ක්‍රම වැඩිදියුණු කර ඇති අතර, එම ඇතැම් ක්‍රමයන් පුද්ගලයන් හඳුනාගැනීමට ද භාවිත කරනු ලැබේ.
8. මේ ශිල්ප ක්‍රමවල දී විසංගමනය, ජෙල විද්‍යුතාගමනය ඒෂණ භාවිතය වැනි (මින් පෙර සඳහන් කළ) ශිල්ප ක්‍රම ද යොදා ගනී.

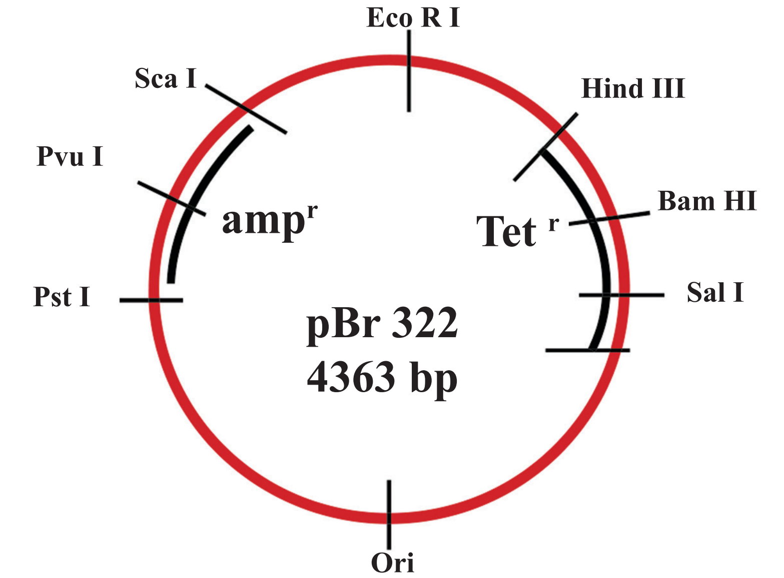
නිරෝධ / සීමා සිතියම් (Restriction maps)

1. සීමා සිතියමක් යනු DNA ඛණ්ඩයක සීමා ස්ථානවල සාපේක්ෂ පිහිටීම සහ එම ස්ථාන අතර දුර දක්වෙන රූපසටහනයි.
2. සීමා සිතියම්ගත කිරීමේ දී නො දන්නා DNA ඛණ්ඩයක් කොටස්වලට කපා ඒ මගින් විවිධ කැපුම් ස්ථාන (සීමා ස්ථාන) හඳුනාගැනීම සිදු කෙරේ.
3. විශේෂිත DNA අනුක්‍රම ද්විත්ව දාම DNA ඛණ්ඩවලට කැපීම සීමා එන්සයිම මගින් සිදු වේ.
4. සීමා ස්ථාන සංඛ්‍යාව සහ ඒවා පිහිටන ස්ථාන මත විවිධ ප්‍රමාණයෙන් යුතු DNA ඛණ්ඩ විශාල සංඛ්‍යාවක් ඇති වේ. වෙනස් සීමා එන්සයිම DNA අණුව වෙනස් ස්ථානවලින් කපන බැවින් මේ නිසා වෙනස් ප්‍රමාණවලින් යුතු DNA ඛණ්ඩ ඇති වේ.
5. ක්ලෝනකරණ වාහක ගොඩනැඟීමේ දී සීමා සිතියම් ඉතා වැදගත් වේ. ආගන්තුක DNA ඛණ්ඩයක් ක්ලෝනකරණ ස්ථානයට නිවේෂණය කිරීම සඳහා සීමා එන්සයිම මගින් මෙම සිතියම්වල දැක්වෙන ක්ලෝනකරණ ස්ථානයක දී ඒවා කපනු ලැබේ.

සුලබ ව භාවිත වන ප්ලාස්මිඩ වාහකයක සීමා සිතියමක් පහත රූපයේ දක්වේ.



කුඩා DNA ඛණ්ඩයක සීමා සිතියම



pBr 322 ප්ලාස්මිඩ DNA වාහකයක සීමා සිතියම