

அலகு
6

மூலக்கூறு உயிரியல்



கேரி முல்லிஸ்

நவீன கால உயிரியலின் சகாப்தத்தை பாலிமரேஸ் தொடர் வினையாக்கி கண்டறிவதற்கு முன்பு, பாலிமரேஸ் தொடர் வினையாக்கி கண்டறிந்த பின்பு என இரு காலக்கட்டமாக பிரிக்கலாம். தற்காலத்தில் இயங்கும் அனைத்து மூலக்கூறு உயிரியல் ஆய்வங்களில் நோயைக்கண்டறிதல், தடய அறிவியல் விசாரணையிலும் பாலிமரேஸ் தொடர் வினையாக்கி பயன்படுகிறது. கேரி முல்லிஸ் எனும் அமெரிக்க உயிர்வேதியியல் அறிஞர் பாலிமரேஸ் தொடர் வினையாக்கி கண்டுபிடித்தற்காக 1993-ஆம் ஆண்டு நோபல் பரிசு வழங்கப்பட்டது.

கற்றலின் நோக்கங்கள்

இந்த பாடப்பிரிவை கற்றறிந்த பின்னர், மாணவர்கள் கீழ்க்கண்டவற்றை புரிந்துகொள்ள முடியும்

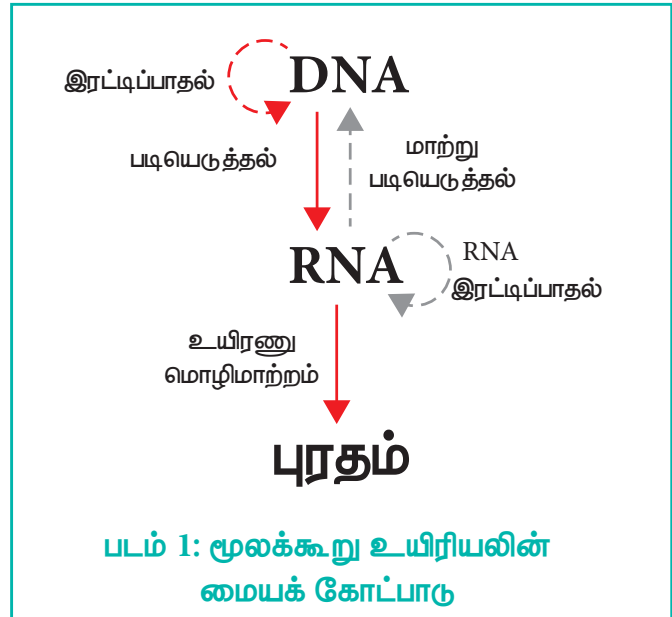
- மூலக்கூறு உயிரியலின் மையக்கோட்பாட்டை விளக்குதல்
- டி.என்.ஏ (DNA) இரட்டிப்படைதலை விளக்குதல்
- ஆர்.என்.ஏ (RNA) உருவாக்கத்தின் வழிமுறைகளை விவரித்தல்
- கிளர்வுற்ற tRNA (கடத்து RNA) வின் கட்டமைப்பை விளக்குதல்
- புரத உருவாக்கத்தின் வழிமுறைகளை விவரித்தல்

6.1 அறிமுகம்

உயிரியல் பிரிவில் செல் வளர்ச்சி, செல் பிரிகை அடைதல், செல்லின் தனித்தன்மை செல் இயக்கம் மற்றும் செல் இடையீடுகள் போன்ற அடிப்படை செல் செயல்முறைகளை அறிவது மூலக் கூறு உயிரியலின் நோக்கமாகும். மூலக்கூறு உயிரியல் எனும் வார்த்தை இராக்பெல்வர் அமைப்பில் இயற்கை அறிவியல் துறையின் இயக்குநராக இருந்த வாரன் விவர் என்பவரால் 1938-ஆம் ஆண்டு உருவாக்கப்பட்டது. 1869-ஆம் ஆண்டு டி.என்.ஏ (DNA) ஒரு மரபு பொருளாக கருதப்பட்டாலும், 1950-ஆம் ஆண்டு J.D வாட்சன் மற்றும் F.H.C. கிரீக் என்பவர்களால் DNAவின் கட்டமைப்பை அறிந்த பிறகு அதன் சரியான தன்மையை கண்டறிய முடிந்தது. இவர்களால் அறிமுகம் செய்யப்பட்ட காரம் இணைதல் கருத்து, DNA இரட்டிப்படைதல், RNA தொகுத்தல் போன்றவற்றை அறிந்து கொள்ள நேரடியாக வழிவகை செய்தது. இந்த கண்டுபிடிப்புகளே மூலக்கூறு உயிரியல் துறையின் வளர்ச்சிக்கு காரணமாகி அறிவியல் அறிஞர்களை பெரிய மூலக்கூறுகள் தொகுத்தலுக்கு பின்னே உள்ள அடிப்படை உயிரியல் கொள்கைகளையும் அதன் செயல்பாடுகளையும் கண்டறிய வழி வகுத்தது. நோயை கண்டறிதல், சிகிச்சை, உயிர் தொழில்நுட்ப பொருட்களின் உருவாக்கம், விவசாயத்தில் விளைச்சல் பெருக்கம் போன்ற தொழில் துறை பயன்பாடுகள் ஆகியவற்றை தன்னக்கத்தே கொண்டு தற்காலத்தில் மூலக்கூறு உயிரியல், உயிரியல் பிரிவுகளில் மிக முக்கியமான துறையாக திகழ்கிறது.

6.1 மூலக்கூறு உயிரியலின் மையக்கோட்பாடு (CENTRAL DOGMA)

உயிர் அமைப்புகளில் உள்ள DNA தன்னுள் கொண்டுள்ள மரபு தகவல்களை அடுத்த தலைமுறைக்கு கொண்டு செல்வதை மூலக்கூறு உயிரியலின் மையக்கோட்பாடு விளக்குகிறது. இம்மையக்கோட்பாடு 1958-ஆம் ஆண்டு கிரீக் என்ற அறிஞரால் தோற்றுவிக்கப்பட்டது. 1965-ம் ஆண்டு வாட்சன் என்ற அறிஞர் இக்கோட்பாட்டில் சில திருத்தங்களை மேற்கொண்டார். இந்த மூலக்கூறு உயிரியல் மையக்கோட்பாடு DNAவிலிருந்து புரதத்திற்கு பகுதி, பகுதியாக தகவல்கள் பரிமாற்றப்படுவதை விவரிக்கிறது. DNA, RNA மற்றும் புரதங்கள் இடையில் நடைபெறும் மரபு தகவல் பரிமாற்றங்களை புரிந்து கொள்ள இக்கொள்கை மிகவும் பயனுள்ளதாக உள்ளது. செல்கள் பிரிதலின்போது, செல்லிலுள்ள DNA புதிய DNAக்களை உருவாக்குகிறது. ஏற்கனவே உள்ள DNAவிலிருந்து புதிய DNAக்கள் உருவாகும் முறையே DNA இரட்டிப்படைதல்(DNA Replication) எனப்படும். DNA-விலிருந்து மரபுத் தகவல்கள் RNA விற்கு கொண்டு செல்லப்படும் முறை படியெடுத்தல்(Transcription) எனப்படும். இந்த RNA மூலக்கூறுகளை பயன்படுத்தி புரதங்கள் உருவாக்கப்படுவது மரபணு மொழி பெயர்த்தல் (translation) எனப்படும். இவ்வாறு மரபுத் தகவல்கள் DNA மூலக்கூறு, RNA புரதம் என கடத்தப்படுவது எல்லா உயிர்களுக்கும் பொதுவானதாகும். ஆனால் அரிதாக ரெட்ரோ வைரஸ்களில் RNA -விலிருந்து DNA தொகுக்கப்படுகிறது. இந்நிகழ்வு மீள்படியெடுத்தல் (Reverse Transcription) எனப்படும். இதேபோல் RNA வைரஸ்களான போலியோ மற்றும் மென்கோ (Mengo) போன்றவற்றில் RNA இரட்டிப்படைதல் நிகழ்கிறது.



6.2 DNA இரட்டிப்படைதல் (DNA REPLICATION)

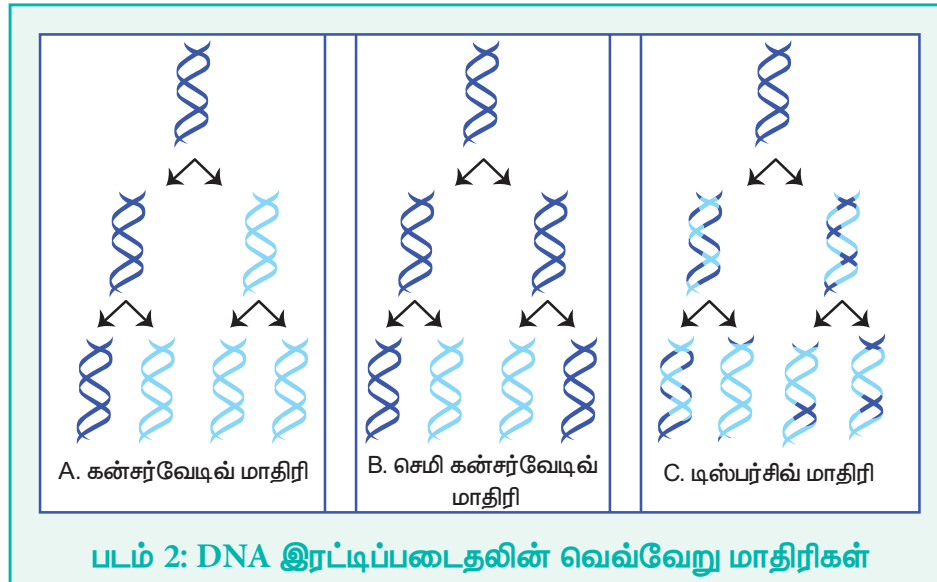
பெற்றோர்களின் செல்களிலிருந்து மரபுத் தகவல்கள் அடுத்த தலைமுறைக்கு கடத்தப்படும் முறை நம்பத்தன்மையுடைய வழிமுறையாகும். செல்களில் ஏற்கனவே உள்ள DNA விலிருந்து புதிய DNA-க்கள் உருவாக்கப்படுவது (இரட்டிப்படைதல்) மையக்கோட்பாட்டின் முதல்படியாகும். DNA இரட்டிப்படைதல் வழிமுறை கீழ்க்கண்ட சிக்கல் தன்மைகளை கடந்து வரவேண்டும்.

1. நாம் ஏற்கனவே கற்று அறிந்ததைப்போல் DNA வில் உள்ள இரு இழைகளும் எதிரெதிர் திசைகளில் (5'→3' மற்றும் 3'→5') உள்ளன. புதியதாக சேர்க்கப்படும் நியூக்ளியோடைடுகள் இந்த எதிர்இணை அமைப்பை பராமரிக்கும் வகையில் இருக்கவேண்டும்.
2. DNA இரட்டை திருகுகளுள் அமைப்புடையது. இதை பிரிக்க ஒரு குறிப்பிட்ட அளவு ஆற்றல் தேவைப்படுகிறது.
3. பிரிக்கப்பட்ட DNA ஒற்றை இழைகள் மீண்டும் இணைவதை தடுக்கவேண்டும். (Re-annealing)
4. DNA மூலக்கூறு பெரிதாக உள்ளதால், DNA இரட்டிப்படைதல் மூலக்கூறின் பல இடங்களில் ஆரம்பிக்க வேண்டும்.
5. DNA இரட்டிப்படைதலின் போது ஏற்படும் தவறுகளை இனங்கண்டு அவற்றை சரிசெய்ய தனித்தன்மை வாய்ந்த வழிமுறை இருக்கவேண்டும்.

DNA பாலிமரேஸ் எனும் நொதியால் நிகழ்த்தப்படும் வினையே DNA இரட்டிப்படைதல் எனப்படும் ஆனால் மேலே குறிப்பிட்ட சிக்கல் தன்மைகளை எதிர் கொள்ள DNA இரட்டிப்படைதல் நிகழ்வுக்கு வேறு சில புரத மூலக்கூறுகளும் தேவைப்படுகின்றன.

6.2.1 DNA இரட்டிப்படைதல் மாதிரிகள்

வாட்சன் மற்றும் கிரீக் ஆகியோரால் DNA வின் இரட்டைத்திருகுகளுள் அமைப்பு கண்டறியப்பட்ட பிறகு, DNA-வின் இரட்டிப்படைதலுக்கு மூன்று விதமான மாதிரிகள் முன்மொழியப்பட்டன. அவை முறையே கன்சர்வேடிவ், (Conservative) செமி கன்சர்வேடிவ் (Semi Conservative) மற்றும் டிஸ்பர்சிவ் (Dispersive) மாதிரிகள் ஆகும்.



6.2.2 கன்சர்வேடிவ், மாதிரி (CONSERVATIVE)

இந்த மாதிரியில் இரண்டு மூல (Parental) DNA இழைகளும், புதிய DNA (Daughter) இழைகளை உருவாக்கிய பிறகு மீண்டும் இணைகின்றன. புதியதாக உருவாக்கப்பட்ட DNA இழைக்கள் மீண்டும் இணைந்து மற்றொரு புதிய DNA இழைகளை உருவாக்குகின்றன. இறுதியாக ஒரு சுற்றின் முடிவில் மூல DNA மற்றும் புதியதாக உருவாக்கப்பட்ட DNA என இரண்டு DNA-க்கள் உருவாக்கப்படுகிறது.



6.2.3 செமி கன்சர்வேடிவ் மாதிரி (SEMI CONSERVATIVE)

இந்த மாதிரியில் மூல DNA-விலிருந்து பிரிந்த இரண்டு DNA இழைகளும் டெம்பிளேட் (Template) ஆக செயல்பட்டு புதிய DNA இழைகளை உருவாக்குகின்றன. இறுதியாக ஒரு சுற்றின் முடிவில் இரண்டு DNA -இழைகள் உருவாக்கப்படுகின்றன. இம்மாதிரியின் அடிப்படையில் இரட்டிப்படைந்த DNA-வில் ஒரு இழை மூல DNA-விலிருந்தும் மற்றொன்று புதியதாக தயாரிப்பட்ட இழையாகவும் உள்ளது.

6.2.4 டிஸ்பர்சிவ் (DISPERSIVE)

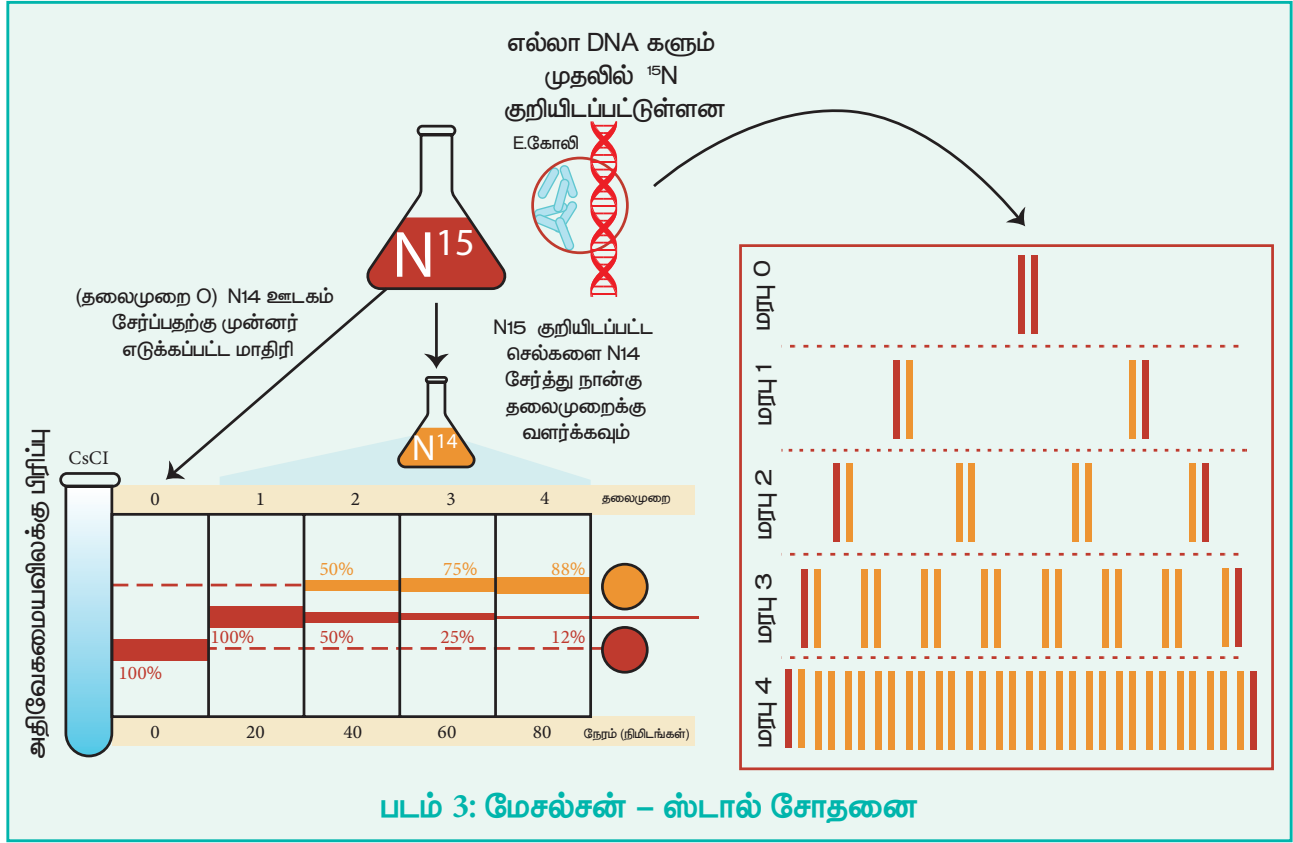
இந்தமாதிரியில் மூல DNA -சீரற்றமுறையில் பல இரட்டைசுருள் துண்டுகளாக பகுக்கப்படுகிறது. இந்த துண்டுகள் கன்சர்வேடிவ் மாதிரிபோலவே DNA இரட்டிப்படைதலுக்கு உள்ளாகின்றன. இறுதியாக இரட்டிப்படைந்த DNA இழைகளில் இடையிடையே மூல DNA மற்றும் புதியதாக உருவாக்கப்பட்ட DNA இழைகளும் கலந்து காணப்படுகின்றன.

6.2.5 மெசல்சன் - ஸ்டாஸ் சோதனை (செமி கன்சர்வேடிவ் மாதிரியை உறுதிச் செய்தல்)

1958-ஆம் ஆண்டு மேத்தில் மெசல்சன் மற்றும் பிராங்கிளின் ஸ்டால் என்பவர்களால் DNA இரட்டிப்படைதல் செமிகன்சர்வேடிவ் முறையில் நடைபெறுவது உறுதிச் செய்யப்பட்டது. இயல்பாக DNA -வில் ^{14}N ஐசோடோப் உள்ளது. இருப்பினும் ^{15}N கன ஐசோடோப் DNA-வில் இருப்பதால் அதன் உயிரியல் செயல்பாடுகள் பாதிக்கப்படாது என்பதை அவர்கள் அறிந்திருந்தனர்.

இச்சோதனையில் (E.Coli) ஈகோலி பாக்டீரியாக்கள் மூன்று குழுக்களாக வளர்க்கப்படுகிறது. முதல் குழு ^{15}N ஐசோடோப்பை நைட்ரஜன் மூலமாக கொண்ட ஊடகத்தின் மூலம் பல தலைமுறைக்களுக்கு (ஒரு தலைமுறை = 20 நிமிடங்கள்) வளர்க்கப்படுகிறது. பாக்டீரியா ^{15}N ஐசோடோப்பை பயன்படுத்தி வளர்ச்சியடைந்தால், DNA முழுவதும் ^{15}N ஐசோடோப் காணப்படுகிறது. இந்த (E.Coli) ஈகோலி பாக்டீரியா ^{14}N ஐசோடோப்பை நைட்ரஜன் மூலமாக கொண்டுள்ள ஊடகத்திற்கு மாற்றப்படுகிறது. தற்போது பாக்டீரியா பிரியும் போது இலேசான ^{14}N ஐசோடோப் DNA-வில் சேர்க்கப்படுகிறது. இலேசான ^{14}N ஊடகத்தில் ஈகோலி பாக்டீரியாவை சேர்த்தப் பின்னர் பூஜ்ஜிய தலைமுறையிலிருந்து ஒவ்வொரு தலைமுறைக்கும் DNA மாதிரி பாக்டீரியாவிலிருந்து பிரித்தெடுக்கப்படுகிறது. பிரித்தெடுக்கப்பட்ட DNA சீசியம் குளோரைடு (CsCl) செறிவு மாறும் மைய விலக்குதலுக்கு உட்படுத்தப்படுகிறது. இந்த வகை மைய விலக்குதல் DNA-வை அதன் செறிவிற்கேற்ப பட்டைகளாக (Band) பிரிக்கிறது. மிகுந்த அடர்த்தி கொண்ட DNA அடிப்பகுதியிலும் குறைந்த அடர்த்தி கொண்ட DNA மேற்பகுதியிலும் இடம் பெறுகின்றன.

இச்சோதனை மற்றும் அதன் முடிவுகள் படம் 3-ல் காட்டப்பட்டுள்ளது. பூஜ்ஜிய தலைமுறையில் ஒரே ஒரு பட்டை குழாயின் அடிப்பகுதியில் காணப்படுகிறது. இதற்கு காரணம் DNA-ல் உள்ள அனைத்து நைட்ரஜன்களும் ^{15}N ஐசோடோப்பாக இருப்பதேயாகும். முதல் தலைமுறையில் ^{15}N மற்றும் ^{14}N ஐசோடோப்புகளுக்கான இடங்களுக்கு இடையே ஒரே ஒரு பட்டை உருவாகிறது. இந்த பட்டை, DNA-வின் ஒரு இழை கன நைட்ரஜனைக் கொண்டும் மற்றொரு இழை இலேசான நைட்ரஜனையும் கொண்டிருப்பதை காட்டுகிறது. மேலும் இது DNA இரட்டிப்படைதல் செமிகன்சர்வேடிவ் முறையில் நிகழ்வதை நேரடியாக உறுதிச்செய்கிறது. இதைப்போலவே அடுத்த இரண்டு தலைமுறைகளுக்கு, ஒரு பட்டை இடைப்பட்ட பகுதியிலும் மற்றொரு பட்டை ^{14}N பகுதியிலும் (இரண்டு பட்டைகள்) காணப்படுகின்றன. அடுத்தடுத்த தலைமுறைகளும் DNA-வின் இரண்டு பட்டைகளை காட்டுகின்றன. எனினும் இடைப்பட்ட பட்டை மெலிந்து ^{14}N பட்டை கனமாகவும் காணப்படுகின்றன. ^{14}N ஊடகத்தில் உள்ள DNA இரட்டிப்படைதலுக்கு ஊடகத்தில் உள்ள ^{14}N ஐசோடோப்பை பயன்படுத்துவதே இதற்கு காரணமாகும்.



6.2.6 DNA இரட்டிப்படைதல்- ஒரு மேற்பார்வை:

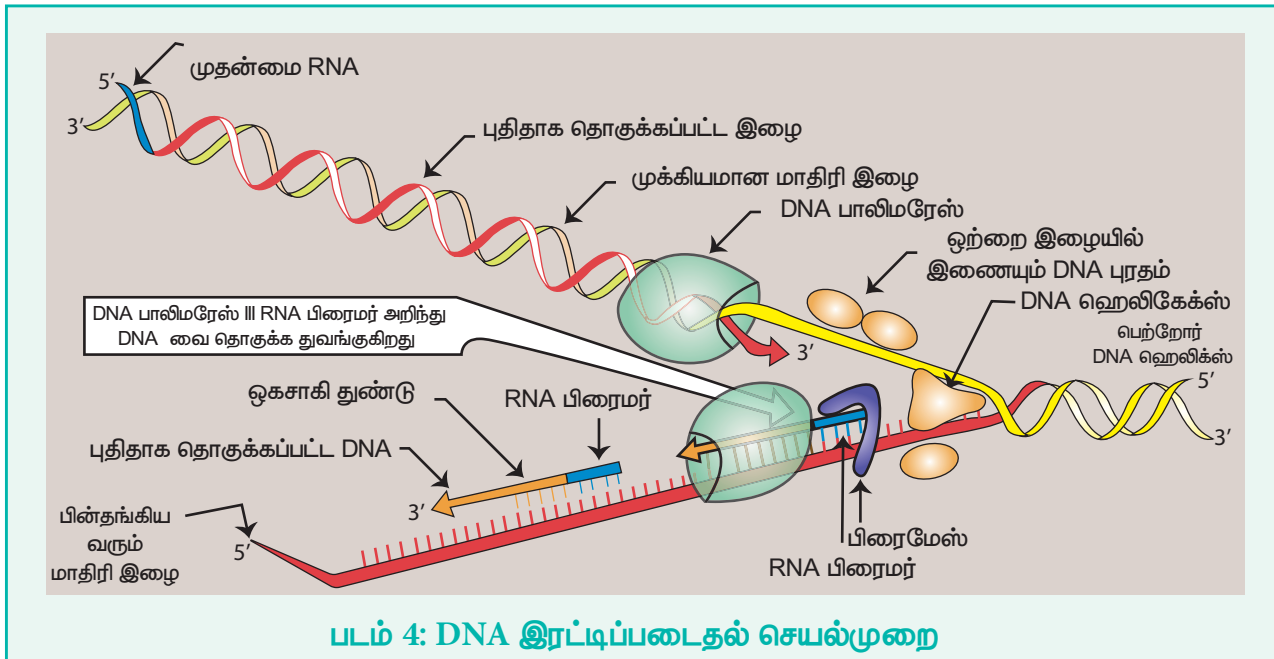
- செல் பிரிதலின் போது, DNA இரட்டிப்படைதல் என்பது ஒரு DNA தன்னை போன்றே மற்றொரு DNA-வை உருவாக்கி கொள்ளும் செயல்முறையாகும்.
- இரட்டை திருகு சுருள் அமைப்பில் (Double helix) உள்ள DNA பிரிந்து இரண்டு ஒற்றை இழைகளாக மாறுவதே DNA இரட்டிப்படைதலின் முதல் படியாகும்.
- ஹெலிகேஸ் எனும் நொதி, DNA-வின் இழைகளுக்கு இடையேயான ஹைட்ரஜன் பிணைப்பை உடைத்து ஒற்றை இழைகளாக மாற்றுகிறது. ஒற்றை இழையில் இணையும் புரதங்கள் SSB (Single strand Binding Protein) ஒற்றை இழைகளில் இணைந்து பிரிக்கப்பட்ட இழைகள் மீண்டும் இணைவதை தடுக்கின்றன.
- DNA மிகப் பெரிய மூலக்கூறாக இருப்பதால், இரண்டு இழைகள் பிரியும் போது 'y' வடிவ இரட்டிப்பாதல் அமைப்பு (Replication fork) உருவாகிறது.
- பிரிக்கப்பட்ட இரண்டு இழைகளும் புதிய இழைகள் தொகுக்கப்படுவதற்கு அச்சுருவாக (template) செயல்படுகின்றன.
- ஒரு இழை 3' லிருந்து 5' எனும் வகையில் இரட்டிப்பாதல் அமைப்பை நோக்கி ஒருங்கமைக்கப்பட்டுள்ளது. இது வழி நடத்தும் இழை (Leading Strand) எனப்படும்.
- மற்றொரு இழை 5' லிருந்து 3' எனும் வகையில் (இரட்டிப்பாதல் அமைப்பிலிருந்து) ஒருங்கமைக்கப்பட்டுள்ளது. இது பின்னிருக்கும் இழை (Lagging strand) எனப்படும்.
- வழி நடத்தும் இழை இரட்டிப்பாதல்: பிரைமேஸ் எனும் நொதியில் உருவாக்கப்படும் ஒரு சிறிய துண்டான RNA பிரைமர் வழி நடத்தும் இழையின் முனையில் இணைக்கிறது. DNA தொகுத்தலுக்கு இந்த பிரைமர் ஆரம்ப புள்ளியாக செயல்படுகிறது. DNA பாலிமேரேஸ் நொதி வழி நடத்தும் இழையில் இணைந்து இழைக்கு இணையான ATGT போன்ற நியூக்ளியோடைடு

காரங்களை 5' லிருந்து 3' என்ற திசையில் சேர்த்துக் கொண்டு இழையுடனே தொடர்ந்து நகர்ந்து செல்கிறது.

9. பின்னிருக்கும் இழை இரட்டிப்படைதல்: எண்ணற்ற RNA பிரைமர்களை RNA பிரைமேஸ் நொதி உருவாக்குகிறது. இந்த பிரைமர்கள் பின்னிருக்கும் இழையில் பல புள்ளிகளில் இணைகின்றன. DNA பாலிமரேஸ் நொதி பின்னிருக்கும் இழையில் இணைந்து 5' லிருந்து 3' என்ற திசையில் நியூக்ளியோடைடு காரங்களை சேர்ப்பதால் உருவாகும் DNA துண்டுகள் ஒகசாகி துண்டுகள் (Okazaki Fragments) எனப்படுகின்றன.
10. எல்லா காரங்களும் பொருத்தப்பட்ட பின்னர் ($A=T$ மற்றும் $G=C$) எக்ஸோ நியூக்ளியேஸ் நொதி RNA பிரைமரை நீக்குகிறது. இதனால் உருவாகும் இடைவெளிகள் மேலும் சில நியூக்ளியோடைடுகளைக் கொண்டு நிரப்புகின்றன.

6.2.7 DNA பாலிமரேஸ்

DNA பாலிமரேஸ் அல்லது DNA-வை பொருத்த DNA சிந்தடேஸ் எனும் நொதி அதிகமான துணை அலகுகளை கொண்ட நொதியாகும். இந்நொதி வளரும் இழையில் நியூக்ளியோடைடு காரங்களை 3' முனையில் ஒவ்வொன்றாக இணைக்கிறது. எனவே இந்நொதி நியூக்ளிக் அமிலத்தை (DNA அல்லது RNA பிரைமர்) 5'→3' என்ற திசையில் தொடர்ச் செல்கிறது. DNA பாலிமரேஸ், 3'→5' எக்ஸோ நியூக்ளியேஸ் மற்றும் 5'→3' எக்ஸோ நியூக்ளியேஸ் எனும் மற்ற இரு செயல்களையும் செய்கிறது. எக்ஸோ நியூக்ளியேஸ்கள் எனும் நொதிகள் DNA-வின் முனையிலுள்ள நியூக்ளியோடைடுகளை ஒவ்வொன்றாக நீக்குகின்றன. DNA பாலிமரேஸின் 3'→5' எக்ஸோ நியூக்ளியேஸ் நொதியின் செயலானது DNA இரட்டிப்படைதலின் போது தவறுதலாக இணைக்கப்பட்ட நியூக்ளியோடைடுகளை நீக்கி சரிசெய்வதாகும். வெவ்வேறு செல்கள் அல்லது உயிரினங்களில் வேவ்வேறான DNA பாலிமரேஸ்கள் காணப்படுகின்றன. இவற்றில் DNA பாலிமரேஸ்-I பெரும்பாலும் காணப்படுகிறது. DNA பாலிமரேஸ் II, III, ஆல்பா, பீட்டா, டெல்டா போன்றவை மற்ற வகைகளாகும்.



புரோகேரியோடிக் மற்றும் யூகேரியோடிக் ஆகியவற்றின் DNA இரட்டிப்படைதலில் உள்ள வேறுபாடுகள்

வ.எண்	புரோகேரியோடிக்	யூகேரியோடிக்
1	சைட்டோபிளாசுத்தில் நிகழ்கிறது	உட்கருவில் நிகழ்கிறது
2	ஒரே ஒரு இரட்டிப்படைதல் பகுதி உள்ளது	எண்ணற்ற இரட்டிப்படைதல் பகுதிகள் உள்ளன.
3	DNA பாலிமரேஸால் தொடக்கநிலை மற்றும் தொடர் நிலை நிகழ்த்தப்படுகிறது	DNA பாலிமரேஸ் ஆல்பாவால் தொடக்கநிலை நிகழ்த்தப்படுகிறது.
4	DNA-வை பழுதுப்பார்த்தல் மற்றும் இடைவெளியை நிரப்புதல் போன்ற செயல்களை DNA- பாலிமரேஸ் -I செய்கிறது.	DNA-வை பழுது பார்த்தல் மற்றும் இடைவெளியை நிரப்புதல் போன்ற செயல்களை DNA-பாலிமரேஸ் பீட்டா செய்கிறது.
5	DNA பாலிமரேஸ்-I, RNA பிரைமரை நீக்குகிறது. (5'→3' எக்ஸோ நியூக்ளியேஸ் செயல்)	DNA பாலிமரேஸ் பீட்டா RNA பிரைமரை நீக்குகிறது.
6	ஒகசாகி துண்டுகள் நீளமானவை	ஒகசாகி துண்டுகள் குட்டையானவை
7	DNA இரட்டைப்படைதல் விரைவாக நடக்கும்.	DNA இரட்டிப்படைதல் மிகவும் மெதுவாக நடக்கும்.
8	பாக்டீரியாவில் உள்ள வட்டவடிவ நெருங்கிய சுருள் அமைப்புடைய DNA-வை (Super Coiled DNA) பிரிக்க DNA கைரேஸ் தேவை	DNAகைரேஸ் தேவையில்லை

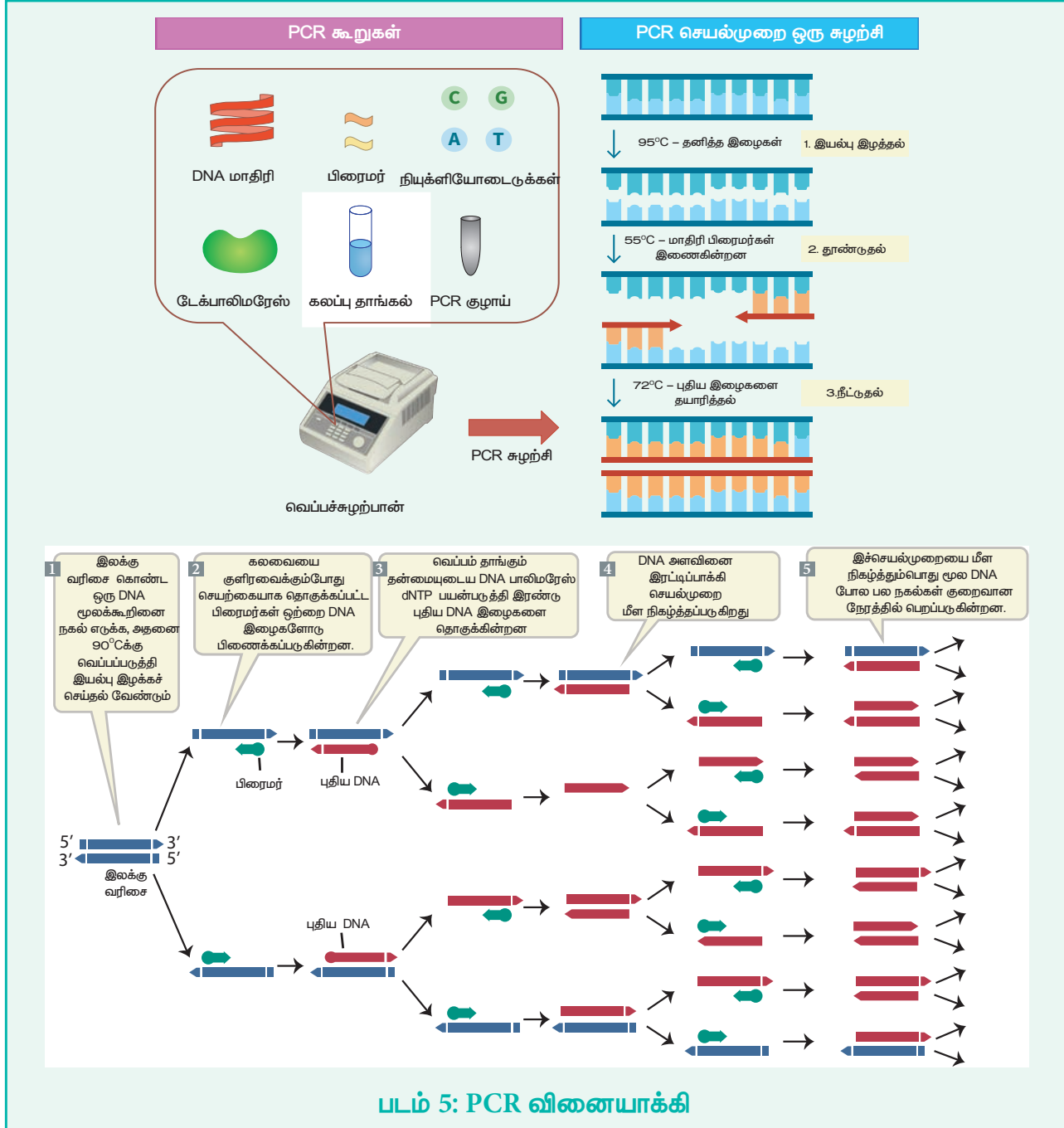
6.2.8 பாலிமரேஸ் சங்கிலித் தொடர் வினையாக்கி- மூலக்கூறு உயிரியலின் இன்றிமையாத கருவி

பாலிமரேஸ் சங்கிலித் தொடர் வினையாக்கி (PCR) DNA-ன் ஒரு சிறிய பகுதியை பல்லாயிரக் கணக்கான பிரதிகளாக மாற்ற பயன்படும் ஒரு முறையாகும். இது PCR பெருக்கம் எனவும் அழைக்கப்படுகிறது. பயன்பாட்டை பொருத்து, பெருக்கமாக்கப்படும் DNA-வின் பகுதி மாறுபடும். சில எடுத்துக்காட்டுகள்

1. ஒரு ஆராய்ச்சியாளர் எந்த மரபணுவின் செயலை அறிய முயலுகிறாரோ அந்த மரபணுவை பெருக்கம் செய்தல்.
2. தடய அறிவியல் நிபுணர், குற்றம் நடந்த இடத்தில் கிடைத்த DNA-வை, சந்தேகிக்கும் நபரின் DNA உடன் ஒப்பிட மரபணு குறியீட்டை (Genetic Marker) பெருக்கம் செய்தல்.
3. புற்று நோய் போன்ற நோய்களை கண்டறிய மரபணு குறியீட்டை பெருக்கம் செய்தல்.

குறியிலக்கு DNA (Target DNA)யை போதுமானதாக உருவாக்குவதே PCR பெருக்கத்தின் இலக்காகும். இதைக்கொண்டு DNA வரிசையறிதல், மின்முனைக் கவர்ச்சி மற்றும் பிளாஸ்மிடு குளோனிங் போன்றவற்றை நிகழ்த்தலாம். PCR முறை, மருத்துவம், மூலக்கூறு உயிரியல் ஆராய்ச்சி, நோய்களை கண்டறிதல், சூழ்நிலையியல் போன்ற உயிரியலின் பல்வேறு பிரிவுகளில் தொடர்ந்து பயன்படுகிறது.

6.2.8.1 DNA பெருக்கத்தில் உள் படிகள் (STEPS INVOLVED IN DNA AMPLIFICATION)



இவ்வினை முக்கியமாக DNA இரட்டிப்படைதலுக்காக ஒரு சோதனைக் குழாயில் நிகழ்த்தப்படுகிறது. டாக் (Taq) பாலிமரேஸ், பிரைமர்கள், DNA அச்சுருக்கள்(Template) மற்றும் டி ஆக்ஸி ரிபோநியூக்ளியோடைடுகள் போன்றவை PCR வினையின் முக்கிய உட்கூறுகளாகும். டாக் (Taq) பாலிமரேஸ் என்பது வெப்பத்தாங்கும் திறன் கொண்ட தெர்மஸ் அக்வாடிகஸ் (Thermus Aquaticus) என்ற பாக்டீரியாவின் DNA பாலிமரேஸ் நொதியாகும். டாக் (Taq) பாலிமரேஸ் 70°C வெப்பநிலையிலும் செயல்படக்கூடியது. மேற்கண்ட உட்கூறுகளை ஒரு சோதனைக் குழாயில் எடுத்துக்கொண்டு அதனுடன் நொதியின் செயல்பாட்டிற்குத் தேவையான இணை காரணிகளையும் சேர்த்து வெப்பப்படுத்துதல் மற்றும் குளிர்வித்தல் ஆகிய செயல்முறைகளுக்கு மீண்டும் மீண்டும் உட்படுத்தும் போது DNA தொகுக்கப்படுகிறது. ஒவ்வொரு DNA பெருக்க சுற்றும் மூன்று படிகளை கொண்டுள்ளது. அவை



படி-1: இயல்பிழத்தல் (Denaturation) (96°C): DNA இழைகளை பிரிக்க அல்லது அதன் இயல்பை இழக்கச் செய்ய, வினை அதிகளவு வெப்பப்படுத்தப்படுகிறது. இவ்வினை அடுத்தப்படிக்கு தேவையான ஒற்றை இழை DNA-வை அச்சுருக்களாக (Template) தருகிறது.

படி-2: பதனாற்றுதல். (Annealing) (55°–65°C): வினையை குளிர்விக்கும் போது, பிரைமர்கள் ஒற்றை இழை DNA-வில் உள்ள பகுதிகளில் அதற்கு பொருத்தமான வரிசையுடன் (Complementary sequence) இணைகிறது.

படி-3: விரிவாக்கம் (Extension) (72°C): வெப்பநிலையை அதிகரிக்கும் போது டாக் (Taq) பாலிமரேஸ் நொதி RNA பிரைமரை நீட்டித்து புதிய DNA இழையை தொகுக்கிறது.

6.3 படியெடுத்தல்

ஏற்கனவே விவரித்தலைப்போல். RNA பாலிமரேஸ் மற்றும் சில புரதங்களின் உதவியால் DNA-வில் உள்ள மரபுத் தகவல்கள் RNA-விற்கு மாற்றப்படுவது படியெடுத்தல் எனப்படும்.

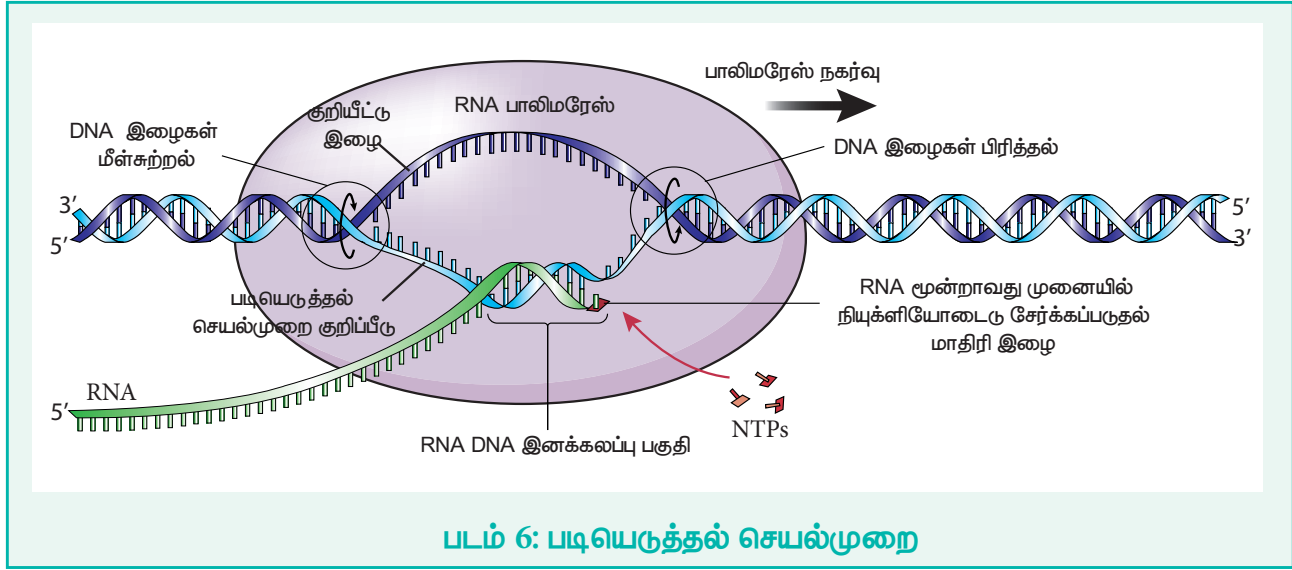
6.3.1 மரபணு மற்றும் மரபணு வெளிப்பாடு

மரபியலில், மரபுத்தகவல்களின் அலகு மரபணுவாகும். எனினும் மூலக்கூறு உயிரியலில், மரபணு என்பது DNA-வின் ஒரு பகுதியாகும். இப்பகுதி RNA மூலக்கூறு அல்லது புரதம் தொகுத்தலுக்கான மரபுத் தகவலைக் கொண்டுள்ளது. ஒவ்வொரு மரபணுவும் தனித்தன்மை வாய்ந்த நியூக்ளியோடைடு வரிசையை கொண்டுள்ளது. இவ்வரிசை செல்கள் தொகுக்கும் அமினோ அமிலங்களின் வரிசை அல்லது நியூக்ளியோடைடுகளின் வரிசையை நிர்ணயிக்கிறது. மரபணு என்பது DNA -யின் ஒரு பகுதியாக இருப்பதால், அப்பகுதி படியெடுத்தல் மூலம் RNA தொகுக்கப்படுவதற்கு அச்சுருவாக செயல்பட்டால் அந்த மரபணு வெளிப்பட்டதாக கருதலாம்.

6.3.2 படியெடுத்தல் ஒரு கண்ணோட்டம்

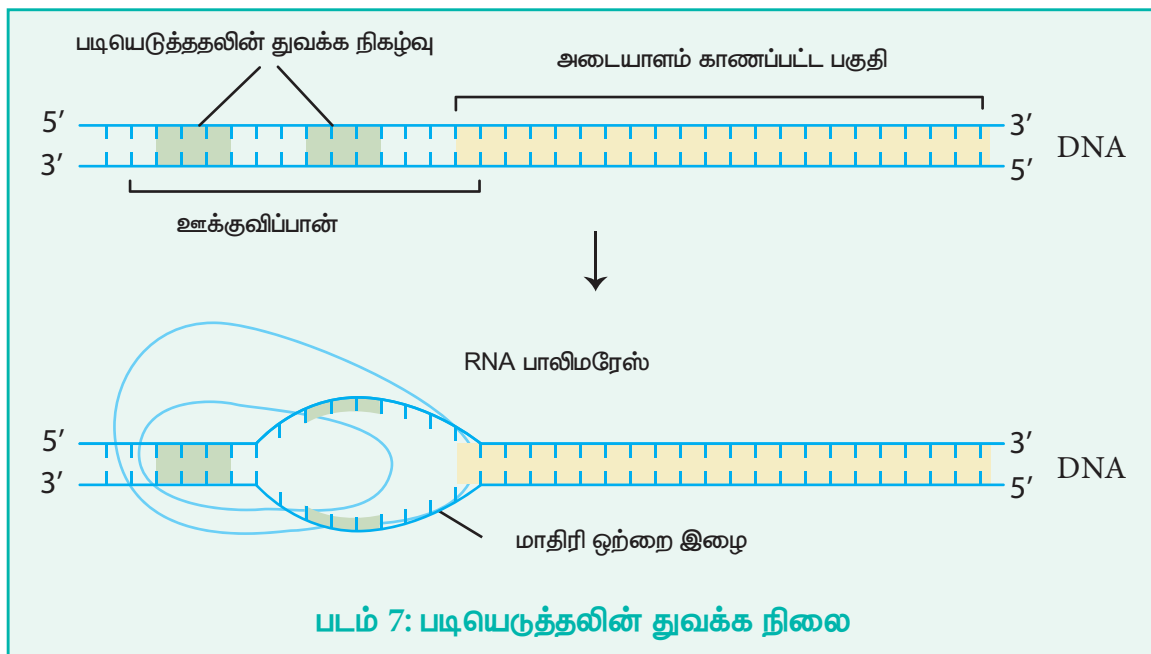
1. படியெடுத்தல் என்பது RNA பாலிமரேஸ் நொதியால், DNA வரிசைப்படி அதற்கு பொருத்தமான RNA-வை தொகுக்கும் செயலாகும்.
2. RNA பாலிமரேஸைத் தவிர பல புரத படியெடுத்தல் காரணிகள் DNA-வின் ஒரு குறிப்பிட்ட பகுதியில் இணைந்து படியெடுத்தல் வேகத்தை கட்டுப்படுத்துகின்றன.
3. புரோக்கேரியோடிக் மற்றும் யூக்கேரியோடிக் ஆகியவற்றிற்கு இடையே மிகச் சிறிய படியெடுத்தல் வேறுபாடு காணப்படுகிறது.
4. HIV போன்ற வைரஸ்கள் RNA-விலிருந்து DNA-வைத் தொகுக்கும் தன்மையை பெற்றுள்ளன. HIV வைரஸ் RNA -வை மரபுப் பொருளாக கொண்டுள்ளது. இது மீள்படியெடுத்தல் (Reverse Transcription) மூலம் RNA-விலிருந்து DNA-வைத் தொகுக்கிறது.
5. ஒன்று அல்லது அதற்கு மேற்பட்ட பொதுவான படியெடுத்தல் காரணிகளுடன் RNA பாலிமரேஸ் நொதி DNA-வின் படியெடுத்தல் தொடங்குமிடத்தில் (Promoter Region) இணைகிறது.
6. RNA பாலிமரேஸ், DNAவின் இரட்டை திருகு சுருல் அமைப்பை பிரித்து படியெடுத்தல் குமிழியை (Transcription Bubble) உருவாக்கிறது. DNA-வில் உள்ள பொருத்தமான காரங்களுக்கு இடையே உள்ள ஹைட்ரஜன் பிணைப்பை உடைப்பதால் இது நிகழ்கிறது.

படியெடுத்தலில் தொடக்கநிலை, தொடர்நிலை, மற்றும் முடிவுநிலை ஆகிய மூன்று நிலைகள் உள்ளன.



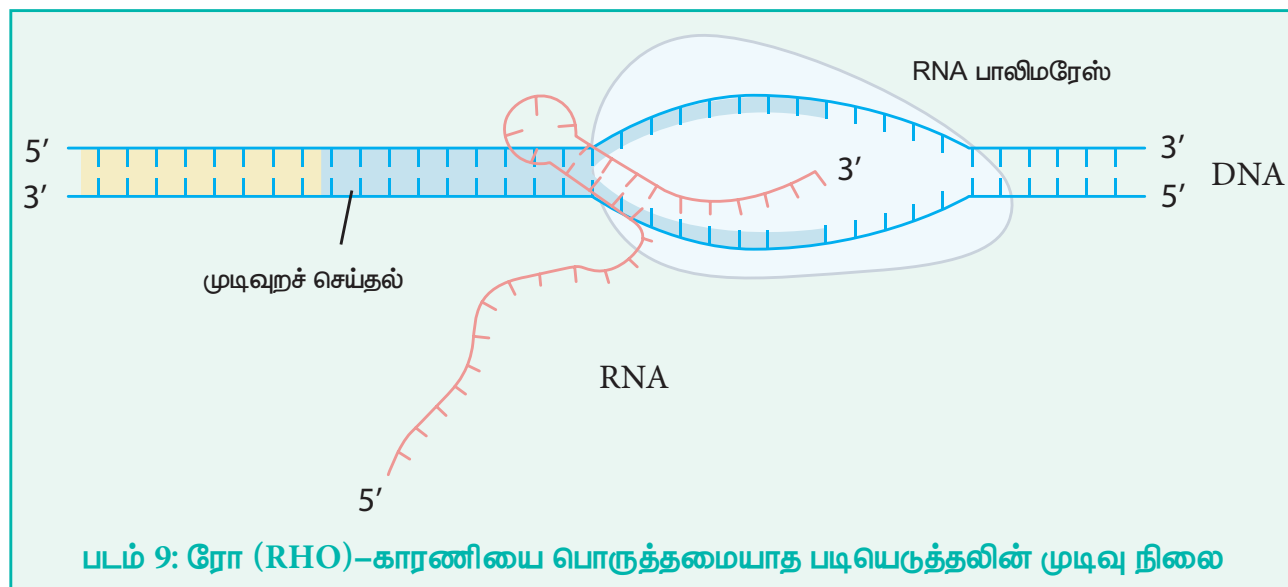
6.3.2.1 படியெடுத்தலின் துவக்க நிலை (INITIATION)

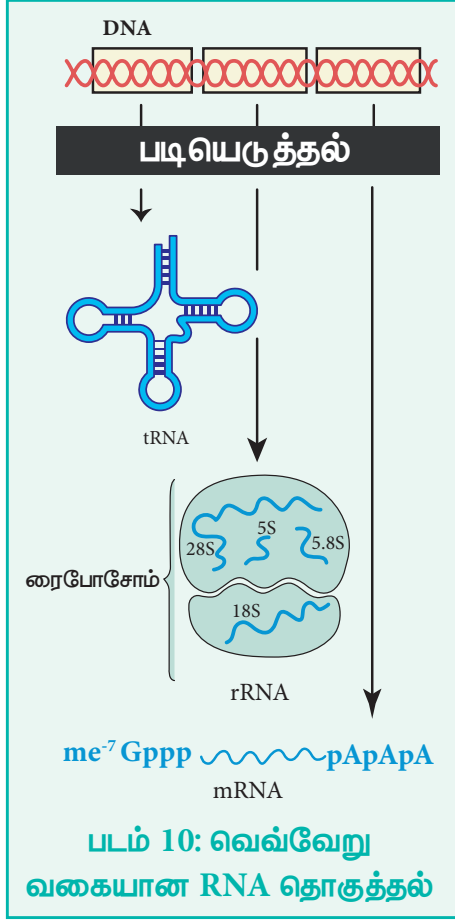
- ஒன்று அல்லது அதற்கு மேற்பட்ட பொதுவான படியெடுத்தல் காரணிகளுடன் RNA பாலிமரேஸ் நொதி DNA-வின் படியெடுத்தல் தொடங்குமிடத்தில் (Promoter Region) இணைகிறது.
- மரபணுவுக்கு அருகாமையில் உள்ள படியெடுத்தல் தொடங்குமிடத்தில், RNA பாலிமரேஸ் சிக்மா போன்ற படியெடுத்தல் காரணிகளுடன் இணைகிறது.
- ஒவ்வொரு மரபணுவும் அதற்குரிய படியெடுத்தல் தொடங்கும் இடத்தைப் பெற்றுள்ளது
- RNA பாலிமரேஸ் DNA இழையில் இணைந்தவுடன் படியெடுத்தலுக்காக இரு ஒற்றை இழைகளாக பிரிக்கிறது.
- RNA பாலிமரேஸ், DNAவின் இரட்டை திருகு அமைப்பை பிரித்து படியெடுத்தல் குமிழியை (Transcription) உருவாக்குகின்றது. இது இரு இணையான நியுக்ளியோடைடுகளுக்கிடையே உள்ள ஹைட்ரஜன் பிணைப்புகளை பிளப்பதன் மூலம் நடக்கின்றது.



[illegible]

- #### 6.3.2.2 படியெடுத்தலின் முடிவு நிலை (TERMINATION)





- பாக்டீரியாக்களில் இருவகையான படியெடுத்தலின் முடிவு நிலைகள் அறியப்பட்டுள்ளன.
 - ரோ (Rho) காரணி பொருத்தமையும் படியெடுத்தலின் முடிவு நிலை
 - ரோ (Rho) காரணி பொருத்து அமையாத படியெடுத்தலின் முடிவு நிலை
- ரோ (Rho) காரணி பொருத்து அமையாத படியெடுத்தலின் முடிவு நிலையில் படியெடுக்கப்பட்ட RNA கொண்டை ஊசி வளைவு அமைப்பை உருவாக்குகிறது. இந்த அமைப்பில் GC காரங்கள் மிகுந்தும் அதைத்தொடர்ந்து பல U காரங்கள் நிறைந்த பகுதி காணப்படுகிறது.
- படியெடுக்கப்பட்ட RNA-வால் உருவாக்கப்படும் இந்த கொண்டை ஊசி வளைவு அமைப்பு RNA பாலிமரேஸ் நொதியின் மீது இயந்திர அழுத்தத்தை உருவாக்குகிறது. இதனால் RNA பாலிமரேஸ் நகர்வது குறைகிறது. அதே வேளையில் பல U காரங்களை

பெற்றுள்ள பகுதி DNA அச்சுரு இழையுடன் வலிமை குறைந்த ஹைட்ரஜன் பிணைப்பை ஏற்படுத்துவதால், RNA- பாலிமரேஸ், DNA அச்சுரு இழையிலிருந்து வெளித்தள்ளப்பட்டு படியெடுத்தல் முடிவு நிலையை அடைகிறது.

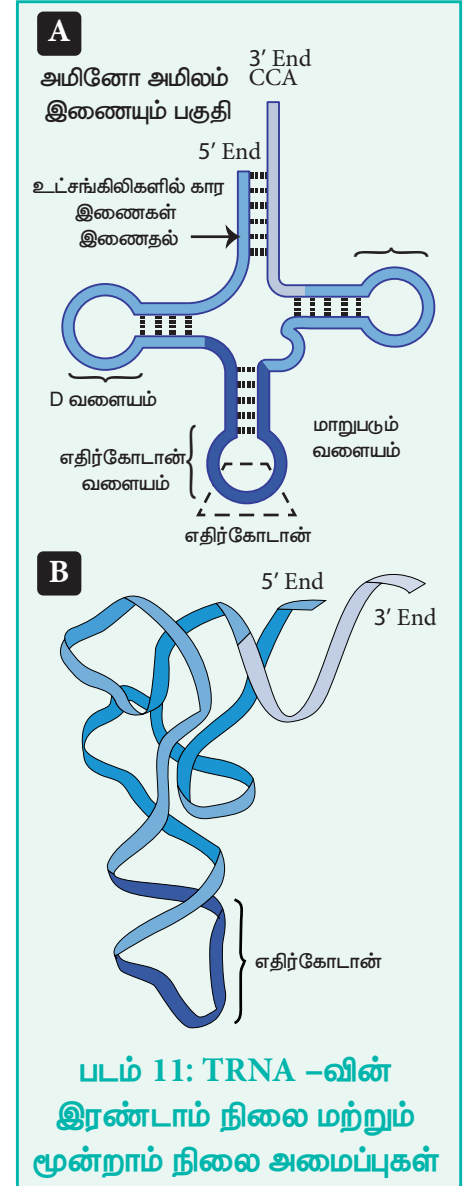
- ரோ (Rho) காரணி பொருத்தமையும் படியெடுத்தலின் முடிவு நிலையில், ரோ எனும் புரத காரணி DNA அச்சுருஇழை மற்றும் mRNA ஆகியவற்றிக்கு இடையேயான நிலைப்புத்தன்மையை குறைக்கிறது. இதனால் புதியதாக தயாரிக்கப்பட்ட mRNA தொடர்நிலை அணைவிலிருந்து வெளியிடப்படுகிறது.

6.3.3 RNA -வின் வகைகள், தொகுத்தல் மற்றும் செயலாக்குதல்

மூன்று வகையான RNA-க்கள் உள்ளன.

- ரிபோசோமல் RNA (rRNA)
- கடத்து RNA (tRNA)
- தூது RNA (mRNA)

இவை புரத தொகுத்தலில் முக்கிய பங்காற்றுகின்றன.





6.3.3.1 ரிபோசோமல் RNA (rRNA)

இந்த மூலக்கூறுகள் ரிபோசோமின் உட்கூறுகள் ஆகும் இவை ரிபோசோமல் புரதங்களுடன் அணைவை ஏற்படுத்துகின்றன. மேலும் புரத தொகுத்தலுக்கு முக்கியமான அமைப்பாக செயல்படுகின்றன. புரோகேரியோட் உயிரினங்களில் மூன்று வகையான rRNA-க்கள் காணப்படுகின்றன. அவை முறையே 5S, 16S, மற்றும் 23S. யூகேரியோட் உயிரினங்களில் நான்கு வகையான rRNA-க்கள் காணப்படுகின்றன. அவை முறையே 5S, 5.8S, 18S மற்றும் 28S. இங்கு S என்பது ஸ்வெட்பெர்க்கின்(Svedbergs) அலகு அல்லது மைய விலக்குதலின் போது படிதல் வீதம் ஆகும்.

6.3.3.2 கடத்து RNA (tRNA)

இவை RNA வகைகளில் மிகவும் சிறியவை ஆகும். புரத தொகுத்தலின் போது அமினோ அமிலங்களை கடத்தி செல்வது இவற்றின் முதன்மையான செயலாகும். அதனால் ஒவ்வொரு அமினோ அமிலத்திற்கும் ஒரு கடத்து RNA உள்ளது. படம் 11 tRNA-வின் இரண்டாம் நிலை மற்றும் மூன்றாம் நிலை அமைப்புகளை காட்டுகிறது. இரண்டாம் நிலை அமைப்பு குளோவர் இலை அமைப்பினைப் பெற்றுள்ளது. இதன் 5' முனையில் அமினோ அமிலம் சக பிணைப்பால் பிணைக்கப்பட்டுள்ளது. வழக்கத்திற்கு மாறான பல டைஹைட்ரோ யூராசில் போன்ற காரங்கள் இந்த அமைப்பில் அதிகளவில் கணப்படுகின்றன. இது சங்கிலிக்குள் நிகழும் கார இணைதலை ஏற்படுத்துவதன் மூலம், TψC வளைவு, எதிர்கோடான் வளைவு மற்றும் D வளைவு போன்ற வவ்வேறான வளைவுகளை உண்டாக்குகிறது.

6.3.3.3 தூது RNA (mRNA)

மரபு தகவல்களை DNA-விலிருந்து சைட்டோபிளாசுத்திற்கு கொண்டு செல்வதால் இந்த வகை RNA தூது RNA எனப்படுகிறது. இவை உருவளவு மற்றும் நியூக்ளோடைடுகளின் வரிசையில் அதிகளவு பல படித்தான தன்மையை கொண்டுள்ளது. இது புரத தொகுத்தலுக்கு அச்சுருவாக செயல்படுகிறது. ஒரே ஒரு புரதத்திற்கான மரபுத் தகவல்களை கொண்டிருக்கும் mRNA மோனோ சிஸ்ட்ரானிக் (Monocistronic) mRNA எனப்படும். யூகேரியோட்டுகளில் பெரும்பாலான mRNA -க்கள் மோனோ சிஸ்ட்ரானிக் வகையை சார்ந்தவை. எனினும் ஒன்றிற்கும் மேற்பட்ட புரதங்களுக்கான மரபுத் தகவல்களை கொண்டிருக்கும் mRNA பாலி சிஸ்ட்ரானிக் (Polycistronic) mRNA எனப்படும். புரோகேரியாட்களில் காணப்படும் mRNA இவ்வகையை சார்ந்தவையாகும்.

6.3.4 படியெடுத்தலுக்குப் பின் நிகழும் மாற்றங்கள்

யூகேரியாட்களில் mRNA மூலக்கூறுகள் மேலும் செயலாக்கப்படுகின்றன. மிகமுக்கியமான மாற்றங்கள்,

1. படியெடுக்கப்பட்ட mRNA-வின் 5'முனையில் 5- மெத்தில் குவானோசின் சேர்க்கப்படுகிறது.
2. 3' முனையில் பல அடினைன் (A) காரங்கள் சேர்க்கப்படுகின்றன. இது பல A-வால் என அறியப்படுகிறது.
3. யூகேரியாட் மரபணுக்கள் மற்றும் அவற்றிலிருந்து படியெடுக்கப்பட்ட RNA மூலக்கூறுகள் இருவகையான பகுதிகளை கொண்டுள்ளன.
 - i) குறியீட்டுப் பகுதி (Coding Region)
 - ii) குறியீடு அல்லாத பகுதி (Non Coding Region)

குறியீட்டுப் பகுதி எக்ஸான்கள் (Exons) எனவும், குறியீடு அல்லாத பகுதி இன்ட்ரான்கள் (Introns) எனவும் அறியப்படுகின்றன. படியெடுக்கப்பட்ட RNA மூலக்கூறிலிருந்து குறியீடு அல்லாத பகுதிகளை நீக்கும் செயல் RNA ஒத்த மரபணு சேர்க்கை (RNA Splicing) என அறியப்படுகிறது. இவ்வாறு ஒத்த மரபணு சேர்க்கை செய்யப்பட்டு, மரபு தகவல் மொழி பெயர்த்தலுக்கு தயார் நிலையில் உள்ள RNA தூது RNA என அறியப்படுகிறது.

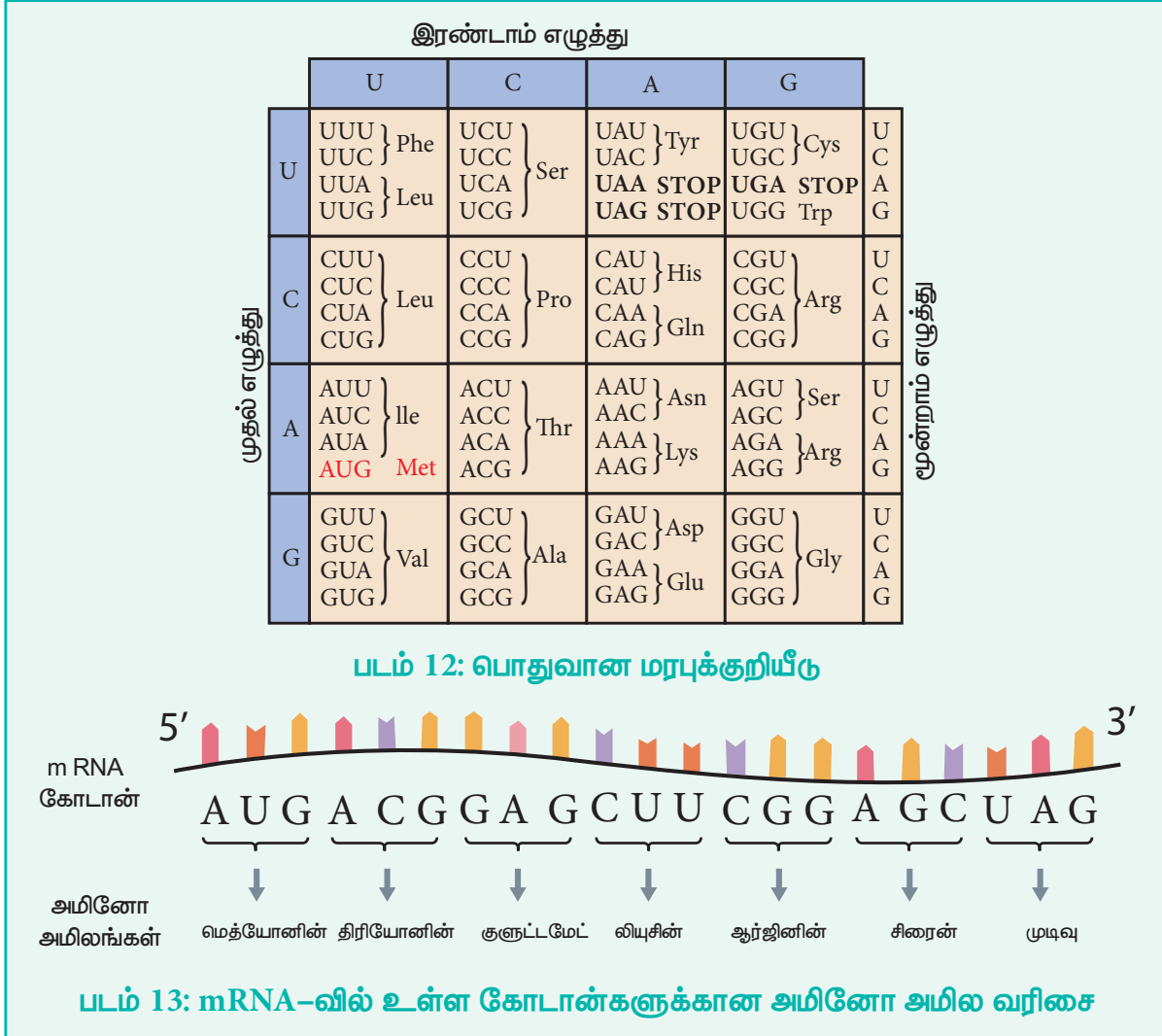
6.3.5 புரோகேரியோடிக் மற்றும் யூகேரியோடிக் ஆகியவற்றின் படியெடுத்தலின் உள்ள வேறுபாடுகள்

வ.எண்	புரோகேரியோடிக் படியெடுத்தல்	யூகேரியோடிக் படியெடுத்தல்
1	படியெடுத்தல் மற்றும் மரபு தகவல் மொழி பெயர்த்தல். இணைந்து நடைபெறுகிறது.	படியெடுத்தல் மற்றும் மரபு தகவல் மொழி பெயர்த்தல். இணைந்து நடைபெறுவது சாத்தியமில்லை.
2	சைட்டோபிளாசத்தில் நிகழ்கிறது.	உட்கருவில் நிகழ்கிறது
3	செல் சுற்றில் படியெடுத்தல் நிகழ்விற்கு எந்த ஒரு வரையறுக்க பட்ட நிலையுமில்லை	செல் சுற்றில் G1 மற்றும் G2 நிலைகளில் பெரும்பாலான படியெடுத்தல் நிகழ்கிறது.
4	mRNA, tRNA.மற்றும் rRNA போன்ற அனைத்து வகை RNA-க்களும் ஒத்த RNAபாலிமரேஸ் நொதியால் தொகுக்கப்படுகின்றன.	mRNA, tRNA.மற்றும் rRNA போன்ற அனைத்து வகை RNA-க்களும் வெவ்வேறு வகையான RNA பாலிமரேஸ் நொதிகளால் (I,II,III) போன்றவற்றால் தொகுக்கப்படுகின்றன.
5	படியெடுத்தலின் தொடக்கநிலைக்கு புரதங்கள் அல்லது துவக்க காரணிகள் ஏதும் தேவையில்லை.	படியெடுத்தலின் தொடக்க நிலைக்கு படியெடுத்தல் காரணிகள் தேவை. இவை TFIIA,TFIIB,TFIID,TFIIE மற்றும் TFIIH. இவை DNA -வில் உள்ள TATA Box பகுதியை அங்கீகரிக்கின்றன.
6	படியெடுத்தல் பாலிசிஸ்ட்ரானிக் தன்மைகொண்டது	படியெடுத்தல் மோனோசிஸ்ட்ரானிக் தன்மைகொண்டது.
7	பொதுவாக படியெடுத்தலுக்கு பின் நிகழும் மாற்றங்கள் இல்லை.	படியெடுத்தலுக்கு பின் நிகழும் மாற்றங்கள் உண்டு. (RNA ஒத்த மரபணு சேர்க்கை)
8	முதன்மை படியெடுத்தலில் உருவான mRNA-வில் இன்ட்ரான்கள் இல்லை	முதன்மை படியெடுத்தலில் உருவான mRNA-வில் இன்ட்ரான்கள் உண்டு.

6.4 மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல்

நாம் ஏற்கனவே கற்றிருந்ததைபோல், செல்லுள்ள ஒவ்வொரு செயல்களிலும் ஈடுபடும் மிக முக்கியமான மூலக்கூறுகள் புரதங்களாகும். குரோமோசோம்களில் DNA-விலிருந்து RNA உருவாகும் செயல்முறை படியெடுத்தல் என்பதை நாம் பார்த்தோம். அதேபோல mRNA-வை அச்சுருவாக பயன்படுத்தி புரத மூலக்கூறுகள் தொகுக்கப்படுவது மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல் என அறியப்படுகிறது.

6.4.1 மரபுக்குறியீடு (GENETIC CODE)



மரபுத்தகவல் மொழிபெயர்த்தலின் போது, செல் உள்ளுறுப்பான ரிபோசோம், mRNA-வில் உள்ள மரபுத்தகவல்களுக்கு ஏற்ப பாலிபெப்டைடு அல்லது அமினோ அமில சங்கிலியை உருவாக்குகிறது. mRNA-மூலக்கூறில் உள்ள தொடர்ச்சியான மூன்று நியூக்ளியோடைடுகள் உள்ள பகுதி கோடான்கள் (Codon) எனப்படும். இந்த கோடான்கள் புரத தொகுத்தலுக்கு தேவையான தகவல்களை தருகின்றன. ஒவ்வொரு அமினோ அமிலத்திற்கும் ஒரு கோடான் உள்ளது. அமினோ அமிலங்களுக்கு மொத்தமாக 61 கோடான்கள் உள்ளன. இதுதவிர UAA, UAG மற்றும் UGA என்ற மூன்று கோடான்கள் உள்ளன. இம்மூன்று கோடான்களும் மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல் முடிவுபெற சமினோகளை வழங்குவதால் இவை நிறுத்துகோடான்கள் (Stop Codons) எனப்படுகின்றன. AUG என்ற கோடான் மெத்தியோனின் அமினோ அமிலத்தை குறிக்கிறது.

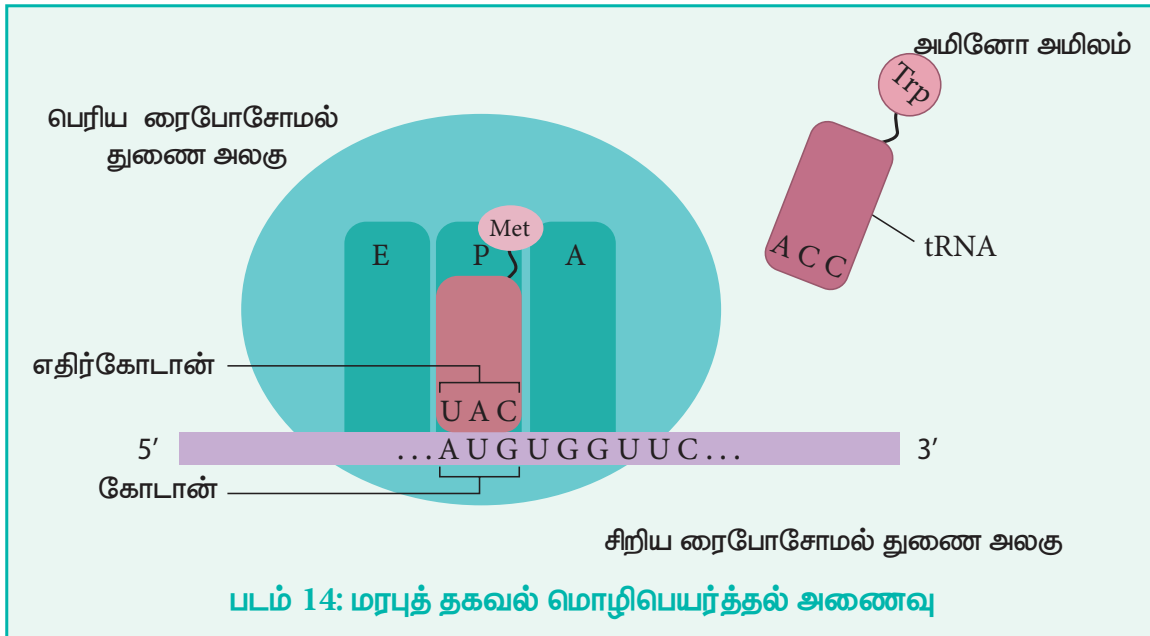
மேலும் இக்கோடான் மரபு வழி மொழிபெயர்த்தலை துவங்கும் கோடானாகும். மரபுக்குறியீடு என்பது பொதுவானதாகும். ஆனால் அரிதான தருணங்களின் அனைத்து உயிரினங்களும் இதைப் பின்பற்றுகின்றன. ஒரு கோடான் ஒரே ஒரு அமினோ அமிலத்தை குறிக்கும். ஆனால் ஒரு அமினோ அமிலம் ஒன்றிற்கும் மேற்பட்ட கோடான்களால் குறிக்கப்பட்டால் அக்கோடான் ஒரு குறி கோடான் (Degenerate) எனப்படும். எடுத்துக்காட்டாக UUU என்ற கோடான் பினைல் அலனின் அமினோ அமிலத்தை மட்டும் குறிக்கிறது. எனினும் பினைல் அலனின் அமினோ அமிலத்தை UUU மற்றும் UUC என்ற இரண்டு கோடான்கள் குறிக்கின்றன.

6.4.2 மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல் ஒரு கண்ணோட்டம்

mRNA மூலக்கூறுகள் புரத்தை உருவாக்குவதற்கு எவ்வாறு படிக்கப்படுகிறது? இதற்கு இரண்டு முக்கிய கூறுகள் இயந்திர தொகுதியாக செயல்படுகின்றன. அவை முறையே tRNA மற்றும் ரிபோசோம்கள் ஆகும். நாம் ஏற்கனவே கண்டதைப்போல் tRNA புரத தொகுத்தலில் முக்கிய பங்கு வகிக்கிறது. tRNA, மூலக்கூறுபாலங்களாக செயல்படுகின்றன. இவை mRNA வின் கோடானை அது குறிப்பிடும் அமினோ அமிலத்துடன் இணைக்கிறது. ஒவ்வொரு tRNA மூலக்கூறும் எதிர்கோடான் (AntiCodon) வளைவைக் கொண்டுள்ளன. இவ்வளைவு மூன்று நியூக்ளியோடைடுகளை பெற்றுள்ளது. இந்த மூன்று நியூக்ளியோடைடுகளும் எதிர் கோடான் என அழைக்கப்படுகின்றன. இந்த எதிர்கோடான் mRNA-வில் உள்ள கோடானுடன் பிணைகிறது. tRNA -வின் மற்றொரு முனை அந்தக்கோடானுக்கு உரிய அமினோ அமிலத்தை கொண்டு வருகிறது.

6.4.3 ரிபோசோம்கள்

ரிபோசோம்கள் என்பவை செல் உள்ளுறுப்புகளாகும். இங்கு புரத தொகுத்தல் நிகழ்கிறது. ரிபோசோம்கள் வெவ்வேறு வகைப்பட்ட rRNA -களால் ஆனது. ஒவ்வொரு ரிபோசோமும் பெரிய மற்றும் சிறிய என இரண்டு துணையலகுகளை கொண்டுள்ளது. இந்த அலகுகள் mRNA -வுடன் படம் 14-ல் காட்டப்பட்டுள்ளவாறு பொருந்துகின்றன.



ரிபோசோம், tRNA நுழைந்து அதன் அமினோ அமிலத்தை வளரும் பாலிபெப்டைடு சங்கிலிக்கு வழங்க மூன்றுவித பொருந்து இடங்களைத் தருகிறது. இந்த பொருந்து இடங்கள் A, P மற்றும் E பொருந்து இடங்கள் என அழைக்கப்படுகின்றன. இந்த ரிபோசோம்கள் அமினோ அமிலங்கள்

இணைந்து பெப்டைடு சங்கிலியை உருவாக்கும் வேதிவினைக்கு தாமாகவே நொதியாக செயல்படுகின்றன.

6.4.4 மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தலில் நிகழும் மூலக்கூறு நிகழ்வுகள்

மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல் மூன்று வெவ்வேறு நிலைகளாக பிரிக்கமுடியும். அது தொடக்க நிலை, தொடர்நிலை மற்றும் முடிவு நிலை ஆகும்.

6.4.4.1 மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தலின் தொடக்க நிலை

தொடக்க நிலைக்கு மூன்று முக்கிய உட்கூறுகள் தேவை.

- ரிபோசோம் – பெரிய துணை அலகு மற்றும் சிறிய துணை அலகு
- புரதத்திற்கான தகவல்களை கொண்டுள்ள mRNA
- உருவாக்கப்படும் புரதத்தில் முதல் அமினோ அமிலத்தை கொண்டுள்ள துவக்கி (Initiator) tRNA. துவக்க அமினோ அமிலம் எப்போதும் மெத்தியோனைன் ஆகும்.

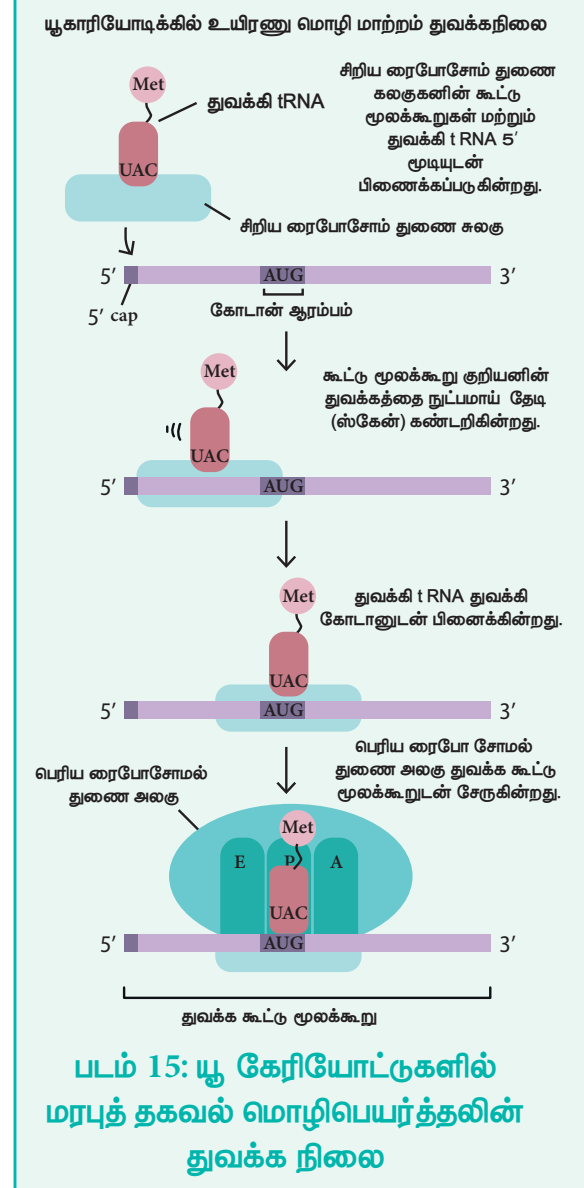
மெத்தியோன் அமினோ அமிலத்தை கொண்டுள்ள tRNA, சிறிய ரிபோசோமல் துணை அலகுடன் இணைகிறது. யூ கேரியோட்டுகளில் இந்த அமைப்பு 5¹ தொப்பி (cap) பகுதியை அங்கீகரித்து 5¹ முனையில் இணைகிறது. பின்னர் இந்த அமைப்பு 3¹ முனையை நோக்கி நகருகிறது. துவக்க கோடானை (start codon) அடைந்ததும் நிறுத்தப்படுகிறது. இந்த நிலையில் அமைப்பு, ரிபோசோமின் பெரிய துணை அலகுடன் இணைகிறது. இந்த அணைவு மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல் துவக்க நிலை அணைவு என அறியப்படுகிறது.

பாக்டீரியாக்களில் துவக்க கோடானுக்கு முன்னர் உள்ள DNA வரிசை (sequence) ஷைன் – டால்கர்னோ வரிசை எனப்படும். இந்த வரிசையில் ரிபோசோமல் துணை அலகு இணைகிறது.

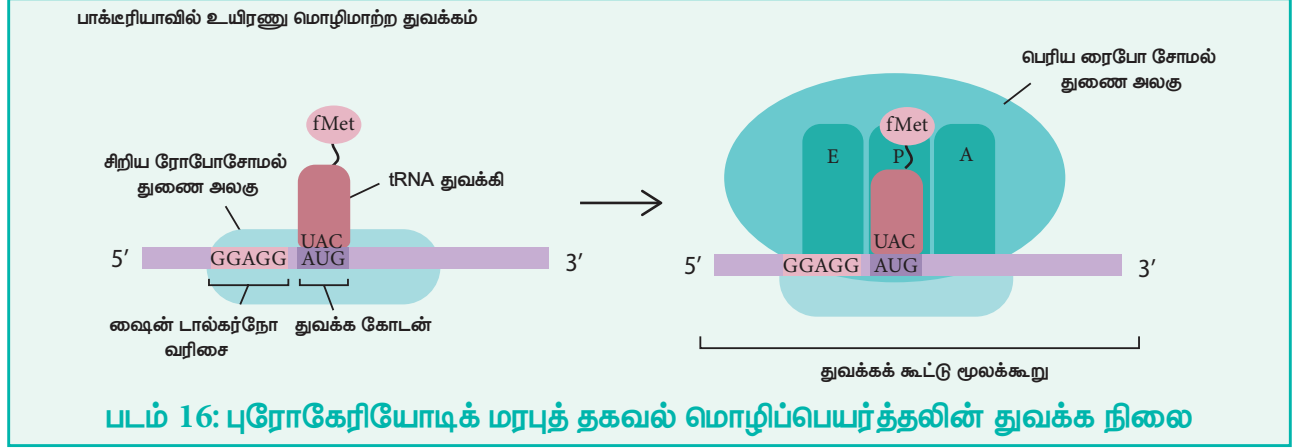
பாக்டீரியோ mRNA பாலிசிஸ்ட்ரானிக் வகையை சார்ந்துள்ளதால் அவை ஆப்ரான்களாக (operons) படியெடுக்கப்படுகின்றன. எனவே ஒரு பாக்டீரியா mRNA பல மரபணு கோடான்களை கொண்டுள்ளது. ஷைன் – டால்கர்னோ வரிசை அமைப்பு துவக்க கோடான் இடத்தை ரிபோசோமிற்குத் தருகிறது.

6.4.4.2 மரபுத் தகவல் மொழிப்பெயர்த்தல் தொடர்நிலை (ELONGATION)

1. முதலில், மெத்தியோனைன் அமினோ அமிலத்தைக் கொண்டுள்ள tRNA ரிபோசோமின் மையபொருந்துமிடம் அல்லது P இடத்தில் துவங்குகிறது.



2. அடுத்து இந்த கோடானுக்கு இணையான எதிர்கோடானை பெற்றுள்ள tRNA ரிபோசோமின் A பகுதியை ஆக்ரமிக்கிறது.

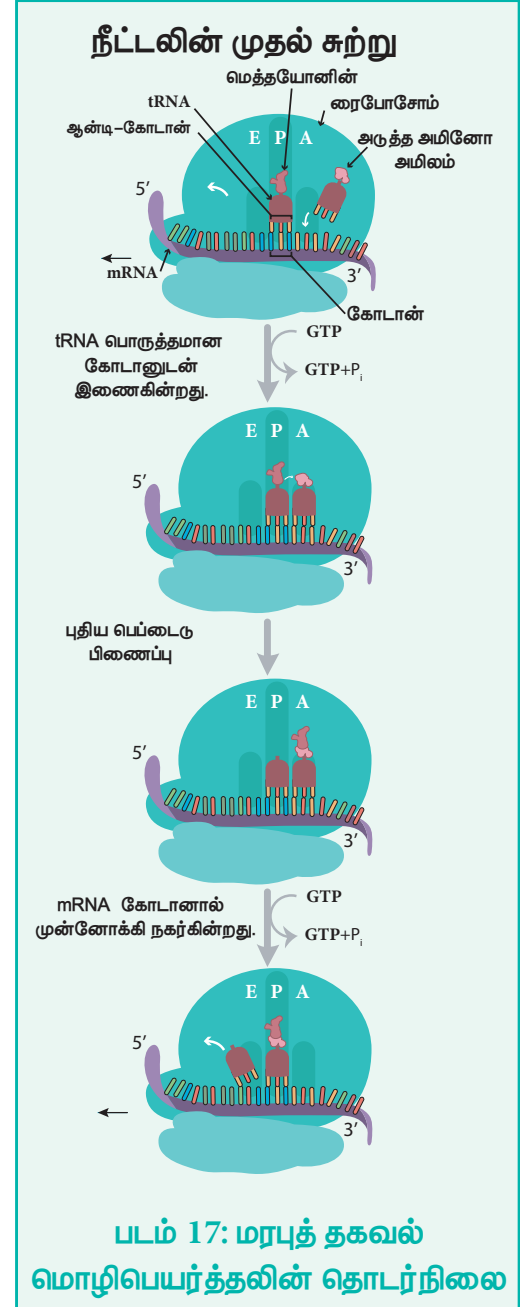


3. A பகுதியை tRNA ஆக்ரமித்தவுடன் முதல் அமினோ அமிலமான மெத்தியோனைனுடன் இரண்டாவதாக வந்த அமினோ அமிலம் சகப்பிணைப்பால் (பெப்டைடு பிணைப்பில்) பிணைக்கப்படுகிறது.
4. இவ்வாறு மெத்தியோனைன் N முனை அமினோ அமிலமாகவும் மற்றொரு அமினோ அமிலம் C முனை அமினோ அமிலமாகவும் கொண்ட டைபெப்டைடு உருவாகிறது.
5. பெப்டைடு பிணைப்பு உருவான பிறகு, mRNA ரிபோசோமின் வழியே அடுத்த கோடானுக்கு முன்னோக்கி நகருகிறது. இந்த நகர்வு காலியான tRNA-வை E- பொருந்துமிடத்தின் வழியாக வெளியேற்றுகிறது. அதே வேளையில் A பொருந்தும் இடத்தில் புதிய tRNA நுழைகிறது.
6. இந்த சுற்று திரும்பத் திரும்ப நிகழ்கிறது. ஒவ்வொரு முறையும் A பொருந்துமிடத்தில் உள்ள கோடானின் தகவலுக்கேற்ப புதிய அமினோ அமிலம் சேர்க்கப்படுகிறது.

6.4.4.3 மரபுத் தகவல் மொழிப்பெயர்த்தலில் இறுதி நிலை

ரிபோசோம், mRNA வில் உள்ள UAA, UAG அல்லது UGA போன்ற நிறுத்து கோடான்களை அடைந்ததும் பெப்டைடு சங்கிலி வளர்த்தல் நிறுத்தப்படுகிறது.

நிறுத்து கோடான்களை வெளியிடு காரணிகள் (Release factors) எனும் புரதங்கள் அங்கீகரிக்கின்றன. இவை P பொருந்துமிடத்தில் இணைந்து தொகுக்கப்பட்ட புரதம் வெளியேறுவதற்கு உதவுகிறது.



சிறிய மற்றும் பெரிய ரிபோசோமல் துணை அலகுகள் mRNA-விலிருந்து தனித்தனியாக பிரிந்து மற்றொரு வேறு விதமான மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தலில் பங்கு பெறுகின்றன.

6.4.5 மரபுத் தகவல் மொழிப்பெயர்த்தலுக்கு பின் நிகழும் மாற்றங்கள்

1. மரபுத் தகவல் மொழிப்பெயர்த்தலுக்குப் பின், அமினோ அமிலங்கள் வேதிமுறையில் மாற்றம் செய்யப்படுகின்றன அல்லது நீக்கப்படுகின்றன.
2. வேதிமாற்றம் என்பவை பாஸ்பாரிலேற்றம், கிளைகோசிலேற்றம், நைட்ரோ ஏற்றம், மெத்திலேற்றம், அசிட்டைல் ஏற்றம் மற்றும் லிப்பிடு ஏற்றம் போன்றவற்றை உள்ளடக்கியதாகும்.
3. புதியதாக உருவாக்கப்பட்ட புரதம் முப்பரிமாண அமைப்பில் (3D) மடிகின்றன. இவை மேலும் மற்ற புரதங்களுடன் இணைந்து பல துணை அலகுகளை கொண்ட புரதங்களை உருவாக்குகின்றன.

6.4.6 புரோகேரியோடிக் மற்றும் யூகேரியோடிக் ஆகியவற்றின் மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தலில் உள்ள வேறுபாடுகள்

வ.எண்	புரோகேரியோடிக் மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல்	யூகேரியோடிக் மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல்
1	படியெடுத்தல் மற்றும் மரபுத் தகவல் மொழி பெயர்த்தல் ஆகியவை ஒரு தொடர் செயல்முறையின் பகுதியாகும். இச்செயல்முறைகள் இணைந்து நடைபெறுகிறது.	படியெடுத்தல் மற்றும் மரபுத் தகவல் மொழி பெயர்த்தல் வெவ்வேறான செயல்முறைகள் ஆகும்.
2	படியெடுக்கப்பட்ட mRNA-வின் 5' முனை எவ்விதமாற்றமும் இன்றி உடனடியாக மரபுத் தகவல் பெயர்த்தலுக்கு கிடைகிறது..	முதன்மையாக படியெடுக்கப்பட்ட mRNA, படியெடுத்தலுக்குப்பின் நிகழும் மாற்றங்களுக்கு உட்பட்டு உட்கரு சவ்வை கடந்து சைட்டோபிளாஸத்தை அடைவதால் மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல் நிகழ்கிறது
3	50S பெரிய துணையலகு மற்றும் 30S சிறிய துணையலகுடன் 70S ரிபோசோம் மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தலில் ஈடுபடுகிறது.	60S பெரிய துணையலகு மற்றும் 40S சிறிய துணையலகுடன் 80S ரிபோசோம் மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தலில் ஈடுபடுகிறது.
4	ரிபோசோமின் பெரிய துணையலகு, 33S, 5S, rRNA மற்றும் 36 வெவ்வேறுவிதமான புரதங்களை கொண்டது.	ரிபோசோமின் பெரிய துணையலகு, 28S, 5S, 5.8S, rRNA மற்றும் 40 வெவ்வேறுவிதமான புரதங்களை கொண்டது.



5	ரிபோசோமின் சிறிய துணையலகு, 16S, rRNA மற்றும் 21 வெவ்வேறுவிதமான புரதங்களை கொண்டது.	ரிபோசோமின் சிறிய துணையலகு, 18S, rRNA மற்றும் 33 வெவ்வேறுவிதமான புரதங்களை கொண்டது.
6	mRNA பாலிஸிஸ்ட்ரானிக் தன்மைக் கொண்டது.	mRNA மோனோஸிஸ்ட்ரானிக் தன்மைக் கொண்டது.

6.5 DNA மறுசேர்க்கை தொழிற்நுட்பம்

DNA மறுசேர்க்கை தொழில்நுட்பமானது DNA குளோனிங் எனவும் அழைக்கப்படுகிறது. ஒரு உயிரினத்தில் இல்லாத புதிய மரபணு போன்ற தேவையான விரும்பத்தக்க DNA துண்டினை அந்த உயிரினத்திற்குள் நுழைக்கின்ற இத்தொழிற்நுட்பம் நமக்குப் பயன்படுகிறது. இச்செயல்முறையை மேற்கொள்ள பல்வேறு வழிமுறைகள் உள்ளன. இருப்பினும் பிளாஸ்மிட் வெக்டர்கள் வழியே புதிய ஜீனை பாக்டீரியாவினுள் செலுத்துவது எளிமையான ஒன்றாகும். பிளாஸ்மிடுகள் என்பன பாக்டீரியாவில் காணப்படும் சிறிய வட்டவடிவ DNA மூலக்கூறுகளாகும். வெளி மரபணுக்களை பாக்டீரியாவினுள் கடத்துவதற்கு இவைகளை பயன்படுத்த இயலும் என்பதால் இவைகள் வெக்டர்கள் என அழைக்கப்படுகின்றன. இத்தொழிற்நுட்பத்தின் ஒட்டுமொத்த செயல்முறையானது படம் 18 ல் விளக்கப்பட்டுள்ளது. மேலும் இச்செயல்முறை பின்வரும் முக்கியமான படிநிலைகளை உள்ளடக்கியது.

1. எதிர்நுண்ணுயிரி தடைகாப்பு குறியீட்டு மரபணுவுடன் வடிவமைக்கப்பட்ட ஒரு பாக்டீரியாபிளாஸ்மிட் வெக்டராக தெரிவு செய்யப்படுகிறது.
2. DNA வை குறிப்பிட்ட வரிசையமைப்பில் பிளவுறச் செய்யும் நொதியான ரெஸ்டிரிக்சன் என்டோ நியூக்ளியேஸ் என்ற நொதியினைப் பயன்படுத்தி வட்டவடிவ பிளாஸ்மிட் வெக்டரானது குறிப்பிட்ட இட அமைவில் பிளவுறச் செய்யப்படுகிறது. எ.கா EcoRI என்ற நொதியானது GAATC என்ற வரிசையமைப்பில் பிளவுறச் செய்கிறது.
3. என்டோ நியூக்ளியேஸ் நொதியால் உருவாக்கப்பட்ட இடைவெளியில், குளோனிங் செய்யப்பட வேண்டிய மரபணு நுழைக்கப்படுகிறது. DNA துண்டுகளை இணைப்பதற்கு DNA லைகேஸ் என்ற நொதி பயன்படுத்தப்படுகிறது. இதன் விளைவாக தேவையான மரபணு அல்லது மறுசேர்க்கை பிளாஸ்மிட்டைக் கொண்டுள்ள வட்டவடிவ பிளாஸ்மிட் வெக்டர் உருவாகிறது.
4. இந்நிலையில் மறுசேர்க்கை செய்யப்பட்ட பிளாஸ்மிட் வெக்டரானது, மாற்றப்படுதல் (Transformation) என்னும் செயல்முறையின் மூலம் செல்லிற்குள் நுழைக்கப்படுகிறது.
5. பிளாஸ்மிட் வெக்டரில் காணப்படும் தடைகாப்பு மரபணுவிற்கு ஏற்ப குறிப்பிட்ட எதிர் நுண்ணுயிரிகளைக் கொண்டுள்ள ஊடகத்தில் இந்த பாக்டீரியாக்கள் வளர்க்கப்படுகின்றன.
6. இந்த நேர்மறை குளோன்கள் (Positive Clones) பின்னர், மறுசேர்க்கை செய்யப்பட்ட புரதங்கள், மரபணு வெளிப்பாடுகளை அறிந்துணர்தல் போன்ற பயன்பாடுகளுக்கு உட்படுத்தப்படுகின்றன.
7. வணிக ரீதியில் மனித இன்சலின், ஆன்டிபாடிகள், மருத்துவ மற்றும் தொழிற் முக்கியத்துவம் வாய்ந்த நொதிகளை உருவாக்குவதற்கு இந்த மறுசேர்க்கை தொழிற்நுட்ப முறையானது வெற்றிகரமாக பயன்படுத்தப்படுகிறது.



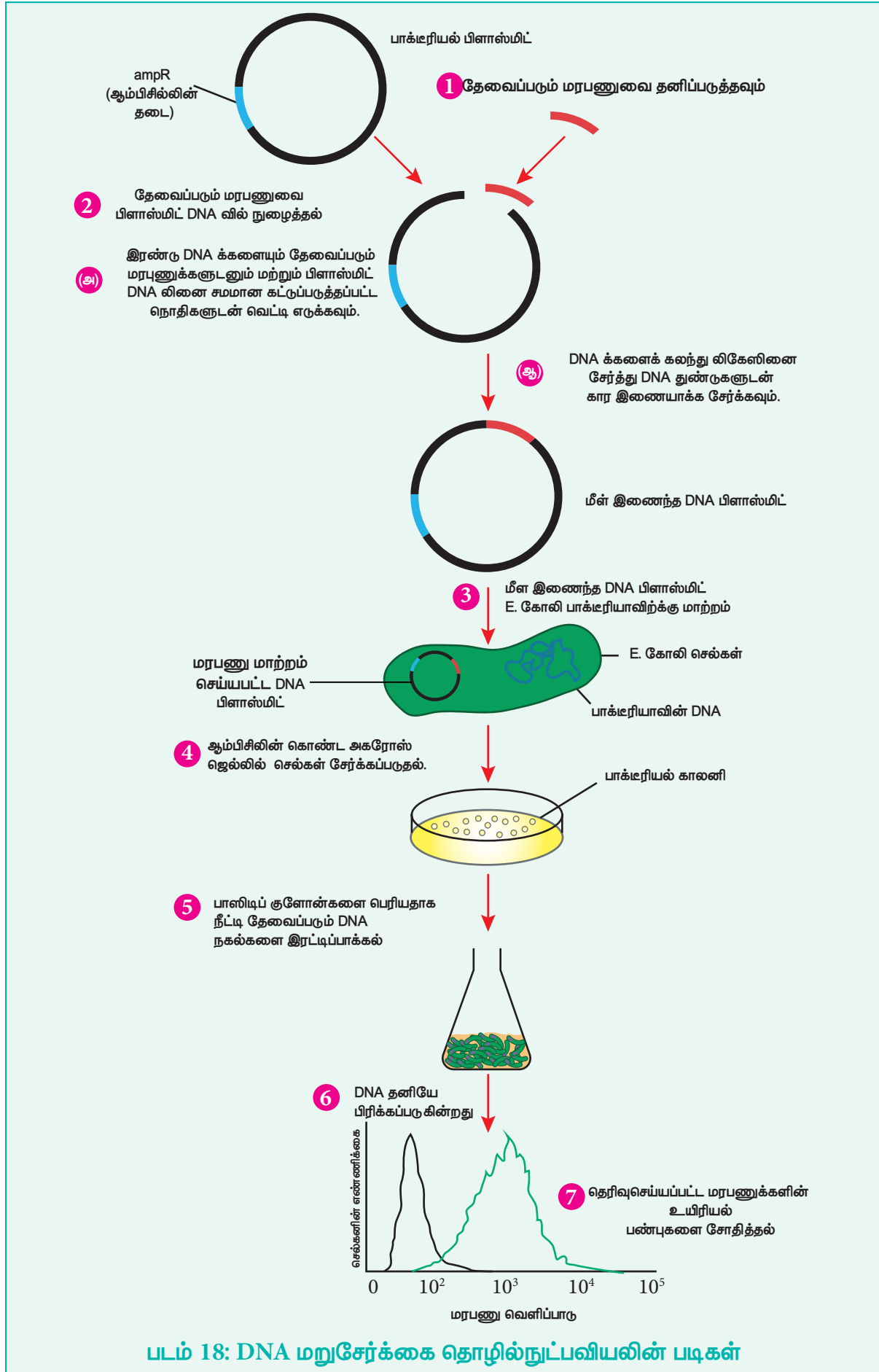
6.6 மரபு தகவல் தொகுப்பு வரிசை அறிதல் மற்றும் மரபணு மாற்ற சகாப்தம்

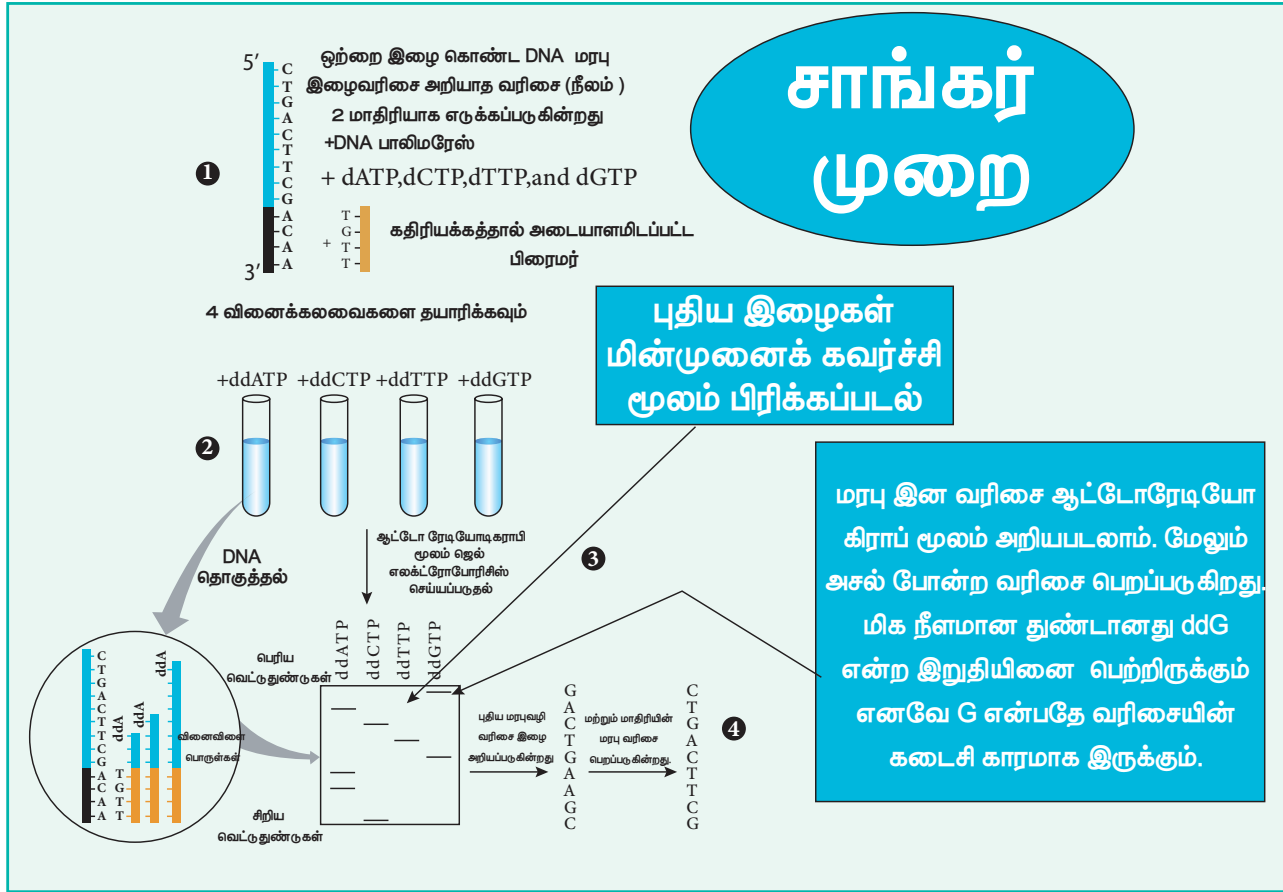
மூலக்கூறு உயிரியலின் பல்வேறு முக்கியத்துவம் வாய்ந்த வளர்ச்சியானது இருபத்தொன்றாம் நூற்றாண்டில் நிகழ்ந்துள்ளது. தற்காலத்தில் ஒரு குறிப்பிட்ட மரபணுவை ஆய்ந்தறிதலை விட மரபணு தகவல்தொகுப்பின் ஒருங்கிணைந்த தன்மை மற்றும் அதன் செயல்பாடுகளைப் பற்றியே மூலக்கூறு உயிரியல் அறிஞர்கள் ஆய்வுகளை மேற்கொள்கின்றனர். ஒரு உயிரினத்தின் DNA வில் காணப்படும் ஒட்டுமொத்த தகவலானது அதன் மரபணு தகவல் தொகுப்பு (Genome) எனப்படுகிறது. மரபியல் (Genomics) எனப்படுவது ஒரு உயிரினத்தின் ஒட்டுமொத்த மரபணு தகவல் தொகுப்பினைப் பற்றி ஆய்ந்தறிதல் மற்றும் சேர்க்கை நுட்பங்களான, DNA மறுசேர்க்கை தொழிற்நுட்பம், PCR பெருக்கம், மேற்படுத்தப்பட்ட DNA வரிசை அறியும் முறைகள் மற்றும் உயிர் தகவலியல் பகுப்பாய்வு ஆகியவற்றை உள்ளடக்கியது என வரையறுக்கலாம்.

மரபுதகவல்தொகுப்பின் முழுமையானதொடர் அமைப்பை அறிந்து அவைகளை கட்டுப்படுத்துதல் மற்றும் பயன்படுத்துதல் ஆகியனவற்றை மேற்கொள்ள மரபணு வரிசை அறிதல் பரிசோதனைகள் முற்படுகின்றன. பிரடரிக் சாங்கர் அவர்களால் உருவாக்கப்பட்ட முன்னோடி வரிசை அமைப்பு கண்டறிதல் சோதனைகள் இன்று இதனை சாத்தியமாக்கி இருக்கின்றன. மேலும் தற்காலத்தைய அடுத்த தலைமுறை வரிசை அமைப்பு கண்டறியும் தொழிற்நுட்பங்கள் பெரும்பாலும் சாங்கர் வரிசை அமைப்பு கண்டறியும் முறையிலேயே அமைகின்றன.

6.6.1 சாங்கரின் வரிசை அமைப்பு கண்டறியும் செயல்முறை

1. இம்முறை டைடீஆக்சி சங்கிலி முறிவு முறை எனவும் அழைக்கப்படுகிறது.
2. ஒரு அச்சுரு DNA இழையினை இரட்டிப்படையச் செய்தல் மூலம் வரிசை அமைப்பு உருவாக்கப்படுகிறது. மேலும் இரட்டிப்படையச் செய்யும் செயல்முறையானது நான்கு காரங்களுள் ஒன்றில் குறுக்கீடு செய்யப்படுகிறது.
3. வளரும் சங்கிலியானது A, T, G அல்லது C யில் முறிவடையும் வகையில் நான்கு வெவ்வேறு வினைக் கலவைகள் தயார் செய்யப்படுகின்றன.
4. மேலும் வினைக் கலவையானது வழக்கமான dNTP க்களுடன் டைடீஆக்சி நியூக்ளியோசைடு டிரைபாஸ்பேட்டுகளைக் கொண்டுள்ளது.
5. இரட்டிப்படைதல் செயல்முறையின் போது, வளரும் DNA இழையில் வழக்கமான dNTP க்கு பதிலாக ddNTP க்கள் உள் நுழையும் போது அந்த நியூக்ளியோடைடில் இரட்டிப்படைதல் நிறுத்தப்படுகிறது.
6. ddNTP ஆனது கதிரியக்க பாஸ்பரஸ் (P^{32}) கொண்டு ஐசோடோப்பு குறியீடு செய்தல் அல்லது ஒளிர்தல் குறியீடு செய்யப்படுகின்றது. இதன் மூலம் ஜெல் மின்முனைக் கவர்ச்சி (Gel Electrophoresis) செயல்முறையில் இவ்விழையினை கண்டுணர இயலும்.
7. சாங்கர் வரிசை அமைப்பு செயல்முறை படம் 19 ல் விரிவாக விளக்கப்பட்டுள்ளது. இந்த முறையினைப் பயன்படுத்தி மிகப் பெரியளவில் இணையான செயல்முறைகள் மூலம் மேற்கொள்ளப்பட்டு 2000 ஆம் ஆண்டில் மனித மரபு தகவல் வரிசை கண்டறியப்பட்டுள்ளது.





படம் 19: சாங்கரின் வரிசையறிதல் முறையின்செய்முறை

6.6.2 அடுத்த தலைமுறை மரபு தகவல் வரிசை அமைப்பு கண்டறியும் தொழிற்நுட்பங்கள் மற்றும் மரபியலின் அவைகளின் பயன்பாடு

அனைத்து அடுத்த தலைமுறை வரிசை அமைப்பு கண்டறியும் தொழிற்நுட்பங்களும் சாங்கர் முறையின் தத்துவத்தின் அடிப்படையிலேயே அமைகின்றன. அதாவது தொகுத்தல் முறையில் வரிசை அமைப்புக் கண்டறிதல் (Sequencing by synthesis). எனினும் இத்தகைய அனைத்து தொழிற்நுட்பங்களும் வளரும் சங்கிலியை நிரந்தமாக முறிப்பதில்லை. எனவே ஒவ்வொரு காரம் உள் நுழைக்கப்படும் போதும் தொகுத்தலை கண்காணிக்க இயலும். இந்த மேற்படுத்தப்பட்ட முறையின் மூலம் பல மில்லியன் கணக்கான DNA துண்டுகளை ஒரே நேரத்தில் வரிசை அமைப்பை கண்டறிய முடிகிறது. எனவே அதிக செயல்வீதம் பெறப்படுகிறது. இது சாங்கர் முறையில் சாத்தியமல்ல மேலும் இத்தகைய தொழிற்நுட்பங்களை பயன்படுத்தும் போது வரிசை அமைப்பைக் கண்டறிய செலவிடப்படும் தொகையும் குறைகிறது. இந்நாளில் ஏறத்தாழ \$200 செலவில் 48 மணி நேரத்திற்குள் மனித மரபு தகவல் வரிசையினை அறிந்துணர இயலும். சில நன்கு அறியப்பட்ட முறைகளாவன பின்வருமாறு: ஒளிரும் மீளும் சாய முறிவு முறை (Illumina reversible dye terminator method) அயனி டாரண்ட் முறை (Ion torrent method) மற்றும் நானோ நுண்துளை DNA அறிதல் முறை (nanopore DNA sequencing methods).

மரபு தகவல் வரிசை அமைப்பை கண்டறிதல் தொழிற்நுட்பத்தின் இந்த வளர்ச்சியானது ஆர்வத்தைத் தூண்டும் பல செயல்திட்டங்களுக்கு வழி வகுத்தது. எடுத்துக்காட்டாக 1000 மரபியல் செயல் திட்டத்தை குறிப்பிடலாம் (1000 genomes project or 1 KGP). இது ஒரு சர்வதேச கூட்டு முயற்சியாகும். 1000 வெவ்வேறு மனிதர்களின் மரபு தகவல் வரிசை அமைப்பை கண்டறிதல் மற்றும்



அவர்களின் மரபியல் மாறுபாடுகளைக் கொண்ட தரவு வரிசையினை உருவாக்குதல் இம்முயற்சியின் நோக்கமாகும். இச்செயல் திட்டம் 2008 யில் துவக்கப்பட்டு 2012 யில் நிறைவடைந்தது. மேலும், 1098 மனிதர்களில் முழுமையான மரபு தகவல் வரிசை அமைப்பு கண்டறியப்பட்டு தொகுக்கப்பட்டுள்ளது. இதுவரை இந்தரவுகளின் உதவியுடன், இதய தமனியடைப்பு நோய், நீரிழிவு நோய் போன்றவற்றோடு தொடர்புடைய சுமார், நூறு மனித மரபு தகவல் வரிசைப் பகுதிகள் அறியப்பட்டுள்ளன.

கேன்சர் ஜீனோம் அட்லஸ் திட்டம் (TCGA) என்பது மற்றுமொரு ஆர்வமூட்டும் செயல் திட்டமாகும். இத்திட்டம் 2007 யில் தொடங்கப்பட்டது. இதுவரை 33 வகையான புற்றுநோய்களை உள்ளடக்கிய சுமார் 20000 புற்றுநோயாளிகளின் மரபு தகவல் வரிசை அமைப்பு தொகுக்கப்பட்டு தரவுகள் உருவாக்கப்பட்டுள்ளன. உலகம் முழுவதும் உள்ள ஆராய்ச்சியாளர்களுக்கு இத்தரவுகள் விலையின்றி கிடைக்கின்றன. இதன் மூலம் புற்றுநோயை எதிர்த்து போராட ஒரு வலிமையான தரவு தொகுப்பு மூலம் உருவாக்கப்பட்டுள்ளது.

6.6.3 NGS தொழிற்நுட்பங்களின் பயன்பாடுகள்

தற்போதைய மரபு தகவல் வரிசை அமைப்பு கண்டறிதல் ஆய்வுகள், DNA வரிசை அமைப்பை கண்டறிதலை தவிர பல பல்வேறு முக்கியமான பயன்பாடுகளை கொண்டுள்ளன. அவற்றுள் சில முக்கியமான பயன்பாடுகள் கீழே விளக்கப்பட்டுள்ளன.

RNA வரிசை அமைப்பைக் கண்டறிதல் (TRANSCRIPTOMIC PROFILING)

இம்முறையில் ஒரு செல்லின் RNA உட்பொருளை தனியே பிரித்தெடுக்க இயலும். இதன் விளைவாக ஒரு குறிப்பிட்ட நிபந்தனையில் ஒரு செல்லின் இடம்பெற்றுள்ள மரபணுப் பற்றிய தகவலினை அளந்தறிதல் மூலம் முழுமையாக கண்டறிய இயலும்.

பல்லுருவ தோற்றம் மற்றும் மாறுபாடுகளைக் கண்டறிதல் (PLYMORPHISM AND VARIATION DISCOVERY)

நோய்கள் போன்ற பீனோடைப்புகளுடன் தொடர்புடைய மரபு தகவல் வரிசை அமைப்பில் ஏற்படும் மாறுபாடுகள் அல்லது திடீர் மாற்றங்களை கண்டறிவதற்கு இம்முறை பயன்படுகிறது.

புரதம் – DNA இடைவினைப் பகுப்பாய்வு (PROTEIN – DNA INTERACTION ANALYSIS (CHIP – SEQ))

இம்முறையானது குரோமேட்டின் இம்மியோனோ வீழ்படிவாதல் (Chromatin Immuno Precipitation (Chip) எனவும் அழைக்கப்படுகிறது. இதில் புரதம் (ஹிஸ்டோன்) DNA அணைவு மட்டும் குறிப்பிட்ட ஆன்டிபாடிகளால் வீழ்படிவாகிறது. பின்னர், DNA யின் அப்பகுதி மட்டும் மரபு தகவல் வரிசை அறியப்படுகிறது. இம்முறை ஹிஸ்டோன் போன்ற புரதங்களுடன் இடைவினைப் புரியும் மரபு பகுதியை அறிந்துணர பயன்படுகிறது.

மெட்டாஜீனோமிக்ஸ் (METAGENOMICS)

சூழல் மாதிரிகளிலிருந்து நேரடியாக பெறப்பட்ட மரபுப் பொருளைப் பற்றி ஆய்ந்தறிதலை மெட்டாஜீனோமிக்ஸ் என வரையறுக்கலாம். எடுத்துக்காட்டாக, ஒரு தனி நபரின் குடலில் காணப்படும் நுண்ணுயிரிகளின் மரபு தகவல் வரிசை அறிதலைக் குறிப்பிடலாம். இத்தகைய மாதிரிகளில் மிக அதிக அளவிலான அறிந்தறியப்படாத எண்ணிக்கையில் ஊடகத்தில் வளர்க்க இயலா நுண்ணுயிரிகள் காணப்படுகின்றன. எனவே இத்தகைய மாதிரிகளை நேரடியாக DNA பிரித்தெடுத்தலுக்கு உட்படுத்துவதன்மூலம் மரபுதகவல் வரிசை அமைப்பு கண்டறிதலானது (ஊடகத்தில் வளர்க்காமல்) ஒரு முழுமையான சமூகத்தின் மரபு தகவல் வரிசையை கண்டறிதலாக கருதலாம்.



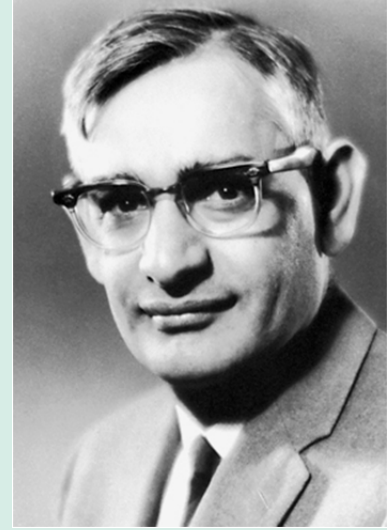
1986 ஆம் ஆண்டு ஸ்டீவ் ஹோவல் என்ற அறிவியல் அறிஞர் மின்மினிப் பூச்சிகள் போன்று இரவில் ஒளிரும் புகையிலைத் தாவரத்தினை உருவாக்கினார். இவர் மின்மினிப் பூச்சிகளில் காணப்படும், அவற்றின் இரவில் ஒளிர்தலுக்கு காரணமான லூசிபெரேஸ் என்ற மரபணுவை



பிரித்தெடுத்து புகையிலைத் தாவரத்தினுள் நுழைந்து அவைகள் இரவில் ஒளிர இயலும் எனக் காட்டினார். இத்தகைய வெளி மரபணுக்களைக் கொண்டுள்ள தாவரங்கள் மரபணு மாற்றப்பட்ட தாவரங்கள் என அழைக்கப்படுகின்றன. இவைகள் பூச்சி தடைகாப்பு போன்ற பண்புகளை பெற்றிருப்பதாக கருதப்படுகிறது. எனினும் இவைகளை மிகவும் எச்சரிக்கையுடன் அணுக வேண்டும். சில நாடுகளில் மரபணு மாற்றப்பட்ட தாவரங்களுக்கு தடை விதிக்கப்பட்டுள்ளது.



ஹர்கோபிங்கொரானா ஒரு இந்திய அமெரிக்க உயிர் வேதியியல் அறிஞர் ஆவார். மரபு குறியீடுகளை கண்டறியும் சோதனைகளுக்கு இவர் ஒரு முன்னோடி. கிருஷ்ணாதேவிகொரானா, மற்றும் கன்பத்ராய்கொரானா. ஆகியோர்களுக்கு மகனாக பிறந்த இவர் தனது இளநிலை மற்றும் முதுநிலை பட்டப்படிப்புகளை பஞ்சாப் பல்கலை கழகத்தில் பயின்றார். இவர் 1975 ல் இந்தியாவில் வாழ்ந்து வந்தார். பின்னர் இங்கிலாந்திற்குச் சென்று லிவர்பூல் பல்கலைக்கழகத்தில் கரிம வேதியியலில் முனைவர் ஆய்வுப் பட்டத்தினை பெற்றார். 1960 ல் அமெரிக்காவின் விஸ்கான்சின் பல்கலைக்கழகத்தில் பேராசிரியராக பணியேற்றார். அங்கு அவர் புரதங்களுக்கான RNA குறியீட்டு முறையினை அறிந்து கொள்வதற்காக பல்வேறு ஆய்வினை மேற்கொண்டார். சிரைன் மற்றும் லியூசின் ஆகிய அமினோ அமிலங்களுக்கான திரும்ப திரும்ப தோன்றும் நியூக்ளியோடைடு அலகுகளான 'UCU CUC UCU....' குறியீடுகளைக் கண்டறிந்தார். மேலும் இவர் நிறுத்து கோடான்களைக் கண்டறிந்தார். புரதத் தொகுத்தலின் மூலக்கூறு உயிரியலை அறிந்துணர்வதற்கான இவரது ஆய்வுகளுக்காக 1968 ஆம் ஆண்டு நோபல் பரிசு வழங்கப்பட்டது.



பாடச் சுருக்கம்

- உயிர் அமைப்புகளில் உள்ள DNA தன்னுள் கொண்டுள்ள மரபு தகவல்களை அடுத்த தலைமுறைக்கு கொண்டு செல்வதை மூலக்கூறு உயிரியலின் மையக்கோட்பாடு விளக்குகிறது.
- பெற்றோர்களின் செல்களிலிருந்து மரபுத் தகவல்கள் அடுத்த தலைமுறைக்கு கடத்தப்படும் முறை நம்பத்தன்மையுடைய வழிமுறையாகும். செல்களில் ஏற்கனவே உள்ள DNA விலிருந்து புதிய DNA-க்கள் உருவாக்கப்படுவது (இரட்டிப்படைதல்) மையக்கோட்பாட்டின் முதல்படியாகும்.
- 1958-ஆம் ஆண்டு மேத்தில் மெசல்சன் மற்றும் பிராங்கிளின் ஸ்டால் என்பவர்களால் DNA இரட்டிப்படைதல் செமிகன்சர்வேடிவ் முறையில் நடைபெறுவது உறுதிச் செய்யப்பட்டது. இயல்பாக DNA -வில் ^{14}N ஐசோடோப் உள்ளது. இருப்பினும் ^{15}N கன ஐசோடோப் DNA-வில் இருப்பதால் அதன் உயிரியல் செயல்பாடுகள் பாதிக்கப்படாது என்பதை அவர்கள் அறிந்திருந்தனர்.
- செல் பிரிதலின் போது, DNA இரட்டிப்படைதல் என்பது ஒரு DNA தன்னை போன்றே மற்றொரு DNA-வை உருவாக்கி கொள்ளும் செயல்முறையாகும்.
- DNA பாலிமரேஸ் அல்லது DNA-வை பொருத்த DNA சிந்தேஸ் எனும் நொதி அதிகமான துணை அலகுகளை கொண்ட நொதியாகும். இந்நொதி வளரும் இழையில் நியூக்ளியோடைடு காரங்களை 3' முனையில் ஒவ்வொன்றாக இணைக்கிறது. எனவே இந்நொதி நியூக்ளிக் அமிலத்தை (DNA அல்லது RNA பிரைமர்) 3' லிருந்து 5' என்ற திசையில் தொடர்ச் செய்கிறது.
- பாலிமரேஸ் சங்கிலித் தொடர் வினையாக்கி (PCR) DNA-ன் ஒரு சிறிய பகுதியை பல்லாயிரக் கணக்கான பிரதிகளாக மாற்ற பயன்படும் ஒரு முறையாகும். இது PCR பெருக்கம் எனவும் அழைக்கப்படுகிறது.
- மரபியலில், மரபுத்தகவல்களின் அலகு மரபணுவாகும். எனினும் மூலக்கூறு உயிரியலில், மரபணு என்பது DNA-வின் ஒரு பகுதியாகும். இப்பகுதி RNA மூலக்கூறு அல்லது புரதம் தொகுத்தலுக்கான மரபுத் தகவலைக் கொண்டுள்ளது. ஒவ்வொரு மரபணுவும் தனித்தன்மை வாய்ந்த நியூக்ளியோடைடு வரிசையை கொண்டுள்ளது. இவ்வரிசை செல்கள் தொகுக்கும் அமினோ அமிலங்களின் வரிசை அல்லது நியூக்ளியோடைடுகளின் வரிசையை நிர்ணயிக்கிறது. மரபணு என்பது DNA -யின் ஒரு பகுதியாக இருப்பதால், அப்பகுதி படியெடுத்தல் மூலம் RNA தொகுக்கப்படுவதற்கு அச்சுருவாக செயல்பட்டால் அந்த மரபணு வெளிப்பட்டதாக கருதலாம்.
- மூன்று வகையான RNA-க்கள் உள்ளன.
 - ▶ ரிபோசோமல் RNA (rRNA)
 - ▶ கடத்து RNA (tRNA)
 - ▶ தூது RNA (mRNA)

இவை புரத தொகுத்தலில் முக்கிய பங்காற்றுகின்றன.



- செல்லுள்ள ஒவ்வொரு செயல்களிலும் ஈடுபடும் மிக முக்கியமான மூலக்கூறுகள் புரதங்களாகும். குரோமோசோம்களில் DNA-விலிருந்து RNA உருவாகும் செயல்முறை படியெடுத்தல் என்பதை நாம் பார்த்தோம். அதேபோல mRNA-வை அச்சுருவாக பயன்படுத்தி புரத மூலக்கூறுகள் தொகுக்கப்படுவது மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல் என அறியப்படுகிறது.
- மரபுத்தகவல் மொழிபெயர்த்தலின் போது, செல் உள்ளுறுப்பான ரிபோசோம், mRNA-வில் உள்ள மரபுத்தகவல்களுக்கு ஏற்ப பாலிபெப்டைடு அல்லது அமினோ அமில சங்கிலியை உருவாக்குகிறது. mRNA-மூலக்கூறில் உள்ள தொடர்ச்சியான மூன்று நியூக்ளையோடைடுகள் உள்ள பகுதி கோடான்கள் (Codon) எனப்படும்.
- DNA மறுசேர்க்கை தொழிற்றுட்பமானது DNA குளோனிங் எனவும் அழைக்கப்படுகிறது. ஒரு உயிரினத்தில் இல்லாத புதிய மரபணு போன்ற தேவையான விரும்பத்தக்க DNA துண்டினை அந்த உயிரினத்திற்குள் நுழைகிற இத்தொழிற்றுட்பம் நமக்குப் பயன்படுகிறது.

மதிப்பீடு



I கோடிட்ட இடங்களை நிரப்புக

1. DNA விலுள்ள தகவலை _____ செயல்முறையின் மூலமாக RNA விற்கு மாற்ற முடியும்.
2. பிரைமேஸ் நொதியினால் உருவாக்கப்படும் ஒரு குறுகிய RNA மூலக்கூறு _____ என்றழைக்கப்படுகிறது.
3. DNA இரட்டைப்படைதலின் போது பின்னிருக்கும் இழையில் காணப்படும் DNA துண்டுகள் _____ என்றழைக்கப்படுகின்றன.
4. பிரைமர்களை அகற்றி நீக்கும் நொதி _____
5. _____ மூலம் DNA-வின் ஒரு சிறிய பகுதியை பல்லாயிரக்கணக்கான பிரதிகளாக மாற்ற முடியும்.
6. படியெடுத்தல் செயல்முறையில் DNA வரிசையானது _____ நொதியால் அறியப்படுகிறது. மேலும் படியெடுத்தலில் DNA-விற்கு இணையான மற்றும் RNA இழைத் தொகுக்கப்படுகிறது.
7. RNA பாலிமரேஸ் சிக்மா படியெடுத்தல் காரணியுடன் DNA-வின் வரிசையில் பிணைக்கப்படும் பகுதி _____ என அழைக்கப்படுகிறது.
8. DNA மூலக்கூறை படியெடுக்கப்பட்ட RNA மூலக்கூறுடன் ஒப்பிடும்போது _____ காரம் _____ காரத்திற்கு பதிலாக உள்ளது.
9. _____ என்பது, DNA விலிருந்து சைட்டோபிளாசத்திற்கு மரபுத் தகவலை சுமந்து செல்லும் RNA வகையாகும்.



10. ஒன்றிற்கும் மேற்பட்ட புரதங்களுக்கான மரபுத் தகவல்களை கொண்டுள்ள mRNA- வானது _____ என அழைக்கப்படுகிறது.
11. மரபுத்தகவல் மொழிபெயர்த்தலில் ஈடுபடும் சைட்டோபிளாசு செல் உள்ளுறுப்பு _____.
12. புரதத் தொகுப்பில் _____ முக்கிய பங்காற்றுகிறது. மேலும், இது mRNAவையும் வளரும் பாலிபெப்டைடு சங்கிலியையும் இணைக்கும் மூலக்கூறு பாலமாக செயல்படுகிறது.
13. ஒரு உயிரினத்தினுள், ஒரு புதிய மரபணுவை நுழைப்பதற்கு அனுமதிக்கும் _____ முறையானது DNA குளோனிங் எனவும் அறியப்படுகிறது.

III பொருத்துக

- | | | |
|--------------------------|---|--|
| 14. சாங்கர்முறை | – | பாக்டீரியா மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தல் |
| 15. ஷைன்- டால்கர்னோவரிசை | – | UAG |
| 16. நிறுத்துகோடான் | – | AUG |
| 17. Taqபாலிமரேஸ் | – | DNA வரிசையறிதல் |
| 18. துவக்ககோடான் | – | பாலிமரேஸ் தொடர் சங்கிலி வினையாக்கி |

IV பின்வரும் வினாக்களுக்கு விடையளி:

1. மூலக்கூறு உயிரியலின் மையக்கோட்பாட்டை சுருக்கமாக எழுதுக.
2. செமி கன்சர்வேடிவ் மாதிரியை உறுதி செய்யும் மெஸல்சன் –ஸ்டால் சோதனையை விவரி.
3. DNA இரட்டிப்படைதலில் நிகழும் நிகழ்வுகளை சுருக்கமாக விவரி.
4. DNA இரட்டிப்படைதலின் பல்வேறு மாதிரிகளை ஒப்பிடுக.
5. புரோகேரியோட்டுகள் மற்றும் யூகேரியோட்டுகளில் நிகழும் DNA இரட்டிப்படைதலின் செயல்முறைகளை வேறுபடுத்துக.
6. DNA இரட்டிப்படைதல் செயல்முறையில் DNA பாலிமரேஸ் நொதியின் பங்கை விளக்குக.
7. PCR பெருக்கத்தில் நிகழும் படிநிலைகளை விளக்குக.
8. படியெடுத்தல் ஒரு கண்ணோட்டம் பற்றி கருத்து கூறுக.
9. படியெடுத்தல் நிகழ்வைப் பொருத்து புரோகேரியோட்டுகள் மற்றும் யூகேரியோட்டுகளை ஒப்பிடுக.
10. மரபுத் தகவல் மொழிபெயர்த்தலில் நிகழும் மூலக்கூறு படிநிலைகளைப் பற்றி சுருக்கமாக எழுதுக.
11. DNA மறுசேர்க்கை தொழிற்நுட்பம் பற்றி சிறுகுறிப்பு வரைக.



12. சாங்கரின் வரிசையறிதல் செய்முறை பற்றி தெளிவாக விளக்குக.
13. படியெடுத்தலுக்குப் பின் நிகழும் மாற்றங்கள் மற்றும் மரபுத்தகவல் மொழிபெயர்த்தலுக்கு பின் நிகழும் மாற்றங்கள் பற்றி விளக்குக.
14. உயிரினங்களில் காணப்படும் மூன்று வகையான RNA க்களை ஒப்பிடுக.
15. அடுத்த தலைமுறை வரிசையறிதல் (Next Generation Sequencing) தொழிற்நுட்பங்கள் மற்றும் மரபியலில் அவற்றின் பங்கு குறித்து விளக்குக.
16. மரபியலில் அடுத்த தலைமுறை வரிசையறிதல் (NGS) தொழிற்நுட்பங்களின் பல்வேறு பயன்களை விளக்குக.
17. DNA இரட்டிப்படைதலின் மூன்று வெவ்வேறு மாதிரிகளின் பெயர்களை எழுதுக.
18. மூன்று வகையான RNAகளின் பெயர்களை எழுதுக?
19. மரபணு குறியீடு மொழிபெயர்ப்பு செயல்முறையில் நிகழும் பல்வேறு படிநிலைகளைக் கூறு.

கருத்து வரைபடம்

