

**પોલિમરેઝ ચેઇન રિએક્શન (PCR) :** એ એક પ્રયોગશાળા પદ્ધતિ છે જેનો વ્યાપકપણે ઉપયોગ ચોક્કસ DNA સિક્વન્સની નકલોને ઝડપથી વિસ્તૃત કરવા માટે થાય છે, PCR ની શોધ 1983 માં સેટસ કોર્પોરેશન ખાતે અમેરિકન બાયોકેમિસ્ટ કેરી મુલિસ દ્વારા કરવામાં આવી હતી. મુલિસ અને બાયોકેમિસ્ટ માર્કલ સ્મિથ, જેમણે DNA ને હેરફેર કરવાની અન્ય આવશ્યક રીતો વિકસાવી હતી, તેમને 1993 માં સંયુક્ત રીતે રસાયણશાસ્ત્રમાં નોબેલ પુરસ્કાર એનાયત કરવામાં આવ્યો હતો. પીસીઆર એ આનુવંશિક પરીક્ષણ, સંશોધનમાં ઉપયોગમાં લેવાતી ઘણી પ્રક્રિયાઓ માટે મૂળભૂત છે, જેમાં ડીએનએના પ્રાચીન નમૂનાઓનું વિશ્લેષણ અને ચેપી એજન્ટોની ઓળખનો સમાવેશ થાય છે. ડીએનએ સિક્વન્સની નકલો ઘાતાંકીય રીતે વિસ્તૃત કરવામાં આવે છે. પીસીઆર હવે બાયોમેડિકલ સંશોધન અને ફોરેન્સિક વિજ્ઞાન સહિત વિવિધ એપ્લિકેશનો માટે તબીબી પ્રયોગશાળા સંશોધનમાં ઉપયોગમાં લેવાતી એક સામાન્ય અને અનિવાર્ય તકનીક છે.

**સિધ્ધાંત:** પીસીઆર ડીએનએ સ્ટ્રેન્ડ (ડીએનએ લદ્ધ) ના ચોક્કસ ક્ષેત્રને વિસ્તૃત કરે છે. મોટાભાગની પીસીઆર પદ્ધતિઓ 0.1 થી 10 કિલો-બેઝ જોડીઓ (kbp) ની લંબાઈના ડીએનએ ટુકડાઓને વિસ્તૃત કરે છે, જોકે કેટલીક તકનીકો 40 kbp સુધીના ટુકડાઓને વિસ્તૃત કરવાની મંજૂરી આપે છે. એમ્પ્લીફિકેશન પ્રોડક્ટની માત્રા પ્રતિક્રિયામાં ઉપલબ્ધ સબસ્ટ્રેટ, સ દ્વારા નક્કી કરવામાં આવે છે, જે પ્રતિક્રિયા આગળ વધતાં મર્યાદિત બને છે.

**પ્રક્રિયા:** સામાન્ય રીતે, પીસીઆરમાં 20-40 વાર તાપમાનમાં ફેરફારની થતો હોય છે, જેને થર્મલ ચક્ર કહેવાય છે, જેમાં દરેક ચક્રમાં સામાન્ય રીતે બે અથવા ત્રણ અલગ તાપમાન પગલાં હોય છે (નીચેની આકૃતિ જુઓ). ચક્ર ઘણીવાર ખૂબ ઊંચા તાપમાને (>90 °C (194 °F)) એક જ તાપમાન પગલાં દ્વારા શરૂ થાય છે, અને ત્યારબાદ અંતિમ ઉત્પાદન વિસ્તરણ અથવા ટૂંકા સંગ્રહ માટે અંતે એક હોલ્ડ કરવામાં આવે છે. દરેક ચક્રમાં વપરાયેલ તાપમાન અને તે લાગુ કરવામાં આવે તે સમય વિવિધ પરિમાણો પર આધાર રાખે છે, જેમાં ડીએનએ સંશ્લેષણ માટે ઉપયોગમાં લેવાતા એન્ઝાઇમ, પ્રતિક્રિયામાં બાયવેલેન્ટ આયનો અને dNTP ની સાંદ્રતા અને પ્રાઇમર્સના ગલન તાપમાન (Tm)નો સમાવેશ થાય છે.

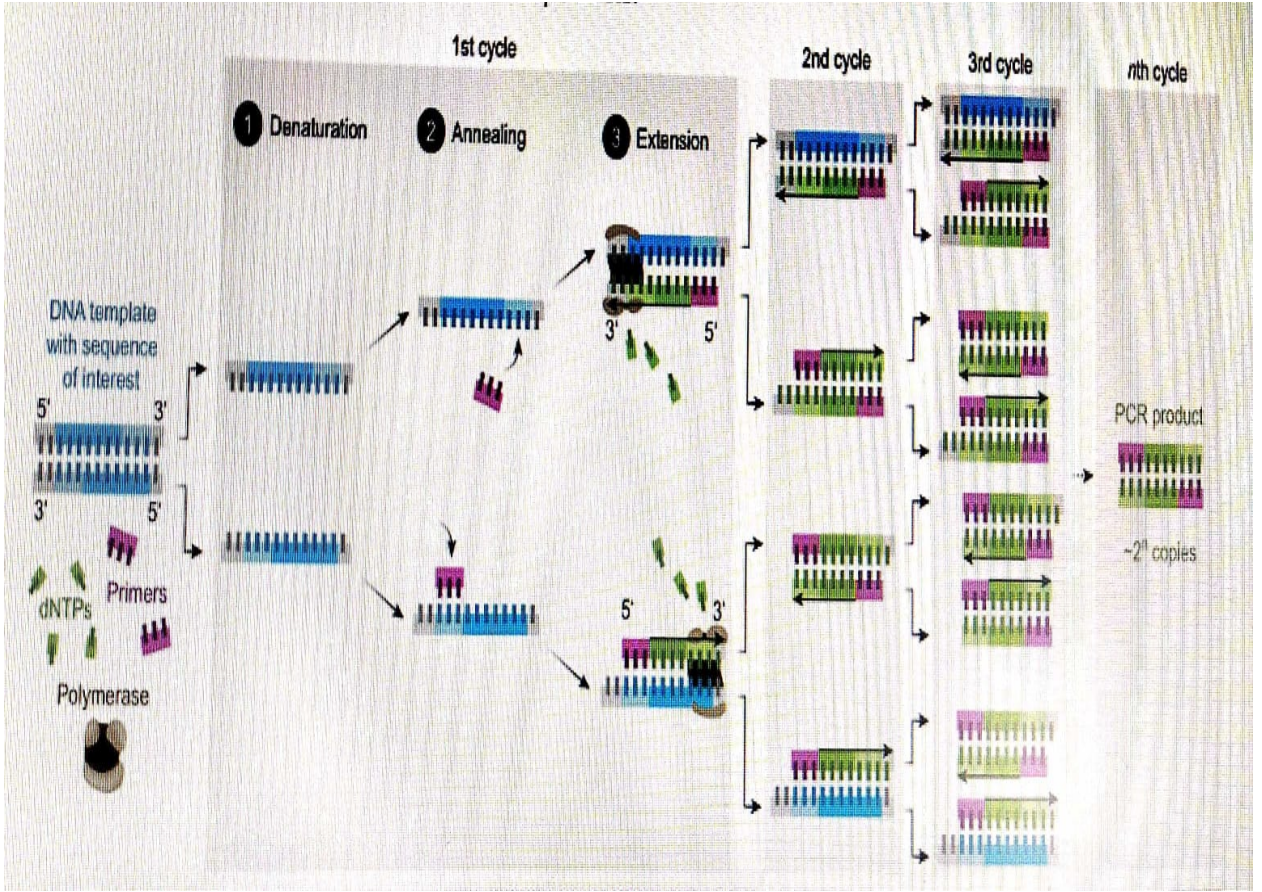
**આરંભ, એનિલિંગ અને વિસ્તરણ.**

**શરૂઆત:** આ પગલું ફક્ત ડીએનએ પોલિમરેઝ માટે જરૂરી છે જેને હોટ-સ્ટાર્ટ પીસીઆર દ્વારા ગરમી સક્રિયકરણની જરૂર હોય છે. તેમાં પ્રતિક્રિયા ચેમ્બરને 94–96 °C (201–205 °F) તાપમાને અથવા જો અત્યંત થર્મોસ્ટેબલ પોલિમરેઝનો ઉપયોગ કરવામાં આવે તો 100°C (208 °F) તાપમાને ગરમી કરવાનો સમાવેશ થાય છે, જે પછી 1-10 મિનિટ માટે રાખવામાં આવે છે.

**વિકૃતીકરણ:** આ પગલું પ્રથમ નિયમિત સાયકલિંગ ઘટના છે અને તેમાં પ્રતિક્રિયા ચેમ્બરને 94–100 °C (201–208 °F) પર 20-30 સેકન્ડ માટે ગરમ કરવાનો સમાવેશ થાય છે. આનાથી પૂરક પાયા વચ્ચેના હાઇડ્રોજન બોન્ડને તોડીને ડબલ-સ્ટ્રેન્ડેડ DNA ટેમ્પ્લેટનું DNA ગલન અથવા વિકૃતીકરણ થાય છે, જેનાથી બે સિંગલ-સ્ટ્રેન્ડેડ DNA અણુઓ ઉત્પન્ન થાય છે.

**એનિલિંગ:** આ પ્રક્રિયામાં, પ્રતિક્રિયા તાપમાન 20-40 સેકન્ડ માટે 50–65 °C (122–149 °F) સુધી ઘટાડવામાં આવે છે, જેનાથી દરેક સિંગલ-સ્ટ્રેન્ડેડ DNA ટેમ્પ્લેટમાં પ્રાઇમર્સને એનિલિંગ કરવાની મંજૂરી મળે છે. પ્રતિક્રિયા મિશ્રણમાં સામાન્ય રીતે બે અલગ અલગ પ્રાઇમરનો સમાવેશ થાય છે: લદ્ધ ક્ષેત્ર ધરાવતા બે સિંગલ-સ્ટ્રેન્ડેડ પૂરકોમાંથી દરેક માટે એક. પ્રાઇમર્સ પોતે સિંગલ-સ્ટ્રેન્ડેડ સિક્વન્સ છે, પરંતુ લદ્ધ ક્ષેત્રની લંબાઈ કરતા ઘણા ટૂંકા હોય છે, દરેક સ્ટ્રાન્ડના 3' છેડે ફક્ત ખૂબ જ ટૂંકા સિક્વન્સને પૂરક બનાવે છે.

**એનિલિંગ પગલા માટે યોગ્ય તાપમાન નક્કી કરવું મહત્વપૂર્ણ છે કારણ કે કાર્યક્ષમતા અને વિશિષ્ટતા એનિલિંગ તાપમાનથી ખૂબ પ્રભાવિત થાય છે.**



આ તાપમાન એટલું ઓછું હોવું જોઈએ કે પ્રાઈમરને સ્ટ્રાન્ડ સાથે હાઈબ્રિડાઈઝેશન કરી શકાય, પરંતુ હાઈબ્રિડાઈઝેશન ચોક્કસ હોય તે માટે પૂરતું ઊંચું હોવું જોઈએ, એટલે કે, પ્રાઈમર ફક્ત સ્ટ્રાન્ડના સંપૂર્ણ પૂરક ભાગ સાથે જ જોડવું જોઈએ, અને બીજે ક્યાંય નહીં. જો તાપમાન ખૂબ ઓછું હોય, તો પ્રાઈમર અપૂર્ણ રીતે જોડાઈ શકે છે. જો તે ખૂબ ઊંચું હોય, તો પ્રાઈમર બિલકુલ જોડાઈ શકશે નહીં. લાક્ષણિક એનિલિંગ તાપમાન ઉપયોગમાં લેવાતા પ્રાઈમરના  $T_m$  કરતા લગભગ  $3-5\text{ }^\circ\text{C}$  નીચે હોય છે. પૂરક પાયા વચ્ચે સ્થિર હાઈડ્રોજન બોન્ડ ત્યારે જ રચાય છે જ્યારે પ્રાઈમર કમ ટેમ્પ્લેટ કમ સાથે ખૂબ નજીકથી મેળ ખાય છે. આ પગલા દરમિયાન, પોલિમરેઝ પ્રાઈમર-ટેમ્પ્લેટ હાઈબ્રિડ સાથે જોડાય છે અને DNA રચના શરૂ કરે છે.

**વિસ્તરણ/લંબાણ:** આ પગલા પર તાપમાન ઉપયોગમાં લેવાતા DNA પોલિમરેઝ પર આધાર રાખે છે; Taq પોલિમરેઝના થર્મોસ્ટેબલ DNA પોલિમરેઝ માટે શ્રેષ્ઠ પ્રવૃત્તિ તાપમાન આશરે  $75-80\text{ }^\circ\text{C}$  ( $167-176\text{ }^\circ\text{F}$ ) છે, જોકે આ એન્ઝાઇમ સાથે સામાન્ય રીતે  $72\text{ }^\circ\text{C}$  ( $162\text{ }^\circ\text{F}$ ) તાપમાનનો ઉપયોગ થાય છે. આ પગલામાં, DNA પોલિમરેઝ 5'-થી-3' દિશામાં ટેમ્પ્લેટના પૂરક પ્રતિક્રિયા મિશ્રણમાંથી મુક્ત dNTPs ઉમેરીને DNA ટેમ્પ્લેટ સ્ટ્રેન્ડના પૂરક નવા DNA સ્ટ્રેન્ડનું સંશ્લેષણ કરે છે, જે dNTPs ના 5'-ફોસ્ફેટ જૂથને નવા (લંબાતા) DNA સ્ટ્રેન્ડના અંતે 3'-હાઈડ્રોક્સી જૂથ સાથે ઘનીકરણ કરે છે. વિસ્તરણ માટે જરૂરી ચોક્કસ સમય વપરાયેલ DNA પોલિમરેઝ અને વિસ્તૃત કરવા માટે DNA લક્ષ્ય ક્ષેત્રની લંબાઈ બંને પર આધાર રાખે છે.

સામાન્ય નિયમ મુજબ, તેમના શ્રેષ્ઠ તાપમાને, મોટાભાગના DNA પોલિમરેઝ પ્રતિ મિનિટ હજાર પાયાનું પોલિમરાઈઝેશન કરે છે. શ્રેષ્ઠ પરિસ્થિતિઓમાં (એટલે કે, જો મર્યાદિત સબસ્ટ્રેટ્સ અથવા રીએજન્ટ્સને કારણે કોઈ મર્યાદાઓ ન હોય તો), દરેક વિસ્તરણ પર, DNA લક્ષ્ય ક્ષેત્રની સંખ્યા બમણી થાય છે. દરેક ક્રમિક ચક્ર સાથે, મૂળ ટેમ્પ્લેટ સેટ અને નવા ઉત્પન્ન થયેલા બધા સેટ વિસ્તરણના આગામી રાઉન્ડ માટે ટેમ્પ્લેટ બની જાય છે, જે ચોક્કસ DNA લક્ષ્ય ક્ષેત્રના ઘાતાંકીય એમ્પ્લીફિકેશન તરફ દોરી જાય છે.

વિકૃતીકરણ, એનેલીંગ અને વિસ્તરણની પ્રક્રિયાઓ એક જ ચક્ર બનાવે છે. ડીએનએ લક્ષ્યને લાખો નકલો સુધી વિસ્તૃત કરવા માટે અનેક ચક્રોની જરૂર પડે છે. આપેલ સંખ્યાના ચક્ર પછી રચાયેલી ડીએનએ નકલોની સંખ્યાની ગણતરી કરવા માટે વપરાતું સૂત્ર  $2^n$  છે, જ્યાં  $n$  એ ચક્રોની સંખ્યા છે. આમ, 30 ચક્ર માટે સેટ કરેલી પ્રતિક્રિયા મૂળ ડબલ-સ્ટ્રેન્ડેડ ડીએનએ લક્ષ્ય ક્ષેત્રની 230 અથવા 1,073,741,824 નકલોમાં પરિણમે છે.

અંતિમ વિસ્તરણ: આ એક વૈકલ્પિક છે, પરંતુ છેલ્લા PCR ચક્ર પછી 5-15 મિનિટ માટે 70–74 °C (158–165 °F) (PCR માં ઉપયોગમાં લેવાતા મોટાભાગના પોલિમરેઝની શ્રેષ્ઠ પ્રવૃત્તિ માટે જરૂરી તાપમાન શ્રેણી) ના તાપમાને કરવામાં આવે છે જેથી ખાતરી કરી શકાય કે બાકી રહેલ કોઈપણ સિંગલ-સ્ટ્રેન્ડેડ DNA સંપૂર્ણપણે વિસ્તૃત છે.

**અંતિમ પકડ:** અંતિમ પ્રતિક્રિયા ચેમ્બરને અનિશ્ચિત સમય માટે 4–15 °C (39–59 °F) સુધી ઠંડુ કરે છે, અને PCR ઉત્પાદનોના ટૂંકા ગાળાના સંગ્રહ માટે તેનો ઉપયોગ કરી શકાય છે.

PCR એ અપેક્ષિત DNA લક્ષ્ય ક્ષેત્ર (જેને ક્યારેક એમ્પ્લીમર અથવા એમ્પ્લીકોન તરીકે પણ ઓળખવામાં આવે છે) સફળતાપૂર્વક ઉત્પન્ન કર્યું છે કે કેમ તે ચકાસવા માટે, PCR ઉત્પાદનોના કદ અલગ કરવા માટે એગારોઝ જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસિસનો ઉપયોગ કરી શકાય છે. PCR ઉત્પાદનોનું કદ DNA સીડી સાથે સરખામણી કરીને નક્કી કરવામાં આવે છે, જે એક પરમાણુ વજન માર્કર છે જેમાં જાણીતા કદના DNA ટુકડાઓ હોય છે, જે PCR ઉત્પાદનોની સાથે જેલ પર ચાલે છે.

### એપ્લિકેશન્સ: ઉપયોગ :

**પસંદગીયુક્ત ડીએનએ આઈસોલેશન :** પીસીઆર ડીએનએના ચોક્કસ પ્રદેશના પસંદગીયુક્ત એમ્પ્લીફિકેશન દ્વારા જીનોમિક ડીએનએમાંથી ડીએનએ ટુકડાઓને અલગ કરવાની મંજૂરી આપે છે. પીસીઆરનો આ ઉપયોગ દક્ષિણ અથવા ઉત્તરીય હાઈપ્રિડાઈઝેશન અને ડીએનએ ક્લોનિંગ માટે હાઈપ્રિડાઈઝેશન પ્રોબ્સ ઉત્પન્ન કરવા જેવા કાર્યોમાં વધારો કરે છે, જેમાં મોટી માત્રામાં ડીએનએની જરૂર પડે છે, જે ચોક્કસ ડીએનએ પ્રદેશનું પ્રતિનિધિત્વ કરે છે. પીસીઆર આ તકનીકોને ઉચ્ચ માત્રામાં શુદ્ધ ડીએનએ પૂરો પાડે છે, જે ખૂબ જ ઓછી માત્રામાં પ્રારંભિક સામગ્રીમાંથી પણ ડીએનએ નમૂનાઓનું વિશ્લેષણ સક્ષમ બનાવે છે.

પીસીઆરના અન્ય ઉપયોગોમાં અજાણ્યા પીસીઆર-એમ્પ્લીફાઇડ સિક્વન્સ નક્કી કરવા માટે ડીએનએ સિક્વન્સિંગનો સમાવેશ થાય છે જેમાં સેંગર સિક્વન્સિંગમાં એમ્પ્લીફિકેશન પ્રાઈમરમાંથી એકનો ઉપયોગ કરી શકાય છે, ડીએનએ સિક્વન્સને પ્લાઝમિડ, ફેજ અથવા કોસ્મિડ (કદ પર આધાર રાખીને) અથવા અન્ય જીવતંત્રના આનુવંશિક સામગ્રીમાં ડીએનએ સિક્વન્સ દાખલ કરવા સહિત રિકોમ્બિનન્ટ ડીએનએ ટેકનોલોજીને ઝડપી બનાવવા માટે ડીએનએ સિક્વન્સનું અલગકરણ. બેક્ટેરિયલ કોલોનીઝ (જેમ કે ઇ. કોલી) ને યોગ્ય ડીએનએ વેક્ટર રચનાઓ માટે પીસીઆર દ્વારા ઝડપથી તપાસી શકાય છે. પીસીઆરનો ઉપયોગ આનુવંશિક ફિંગરપ્રિન્ટિંગ માટે પણ થઈ શકે છે; વિવિધ પીસીઆર-આધારિત પદ્ધતિઓ દ્વારા પ્રાયોગિક ડીએનએની તુલના કરીને વ્યક્તિ અથવા જીવને ઓળખવા માટે વપરાતી ફોરેન્સિક તકનીક.

કેટલીક PCR ફિંગરપ્રિન્ટ પદ્ધતિઓમાં ઉચ્ચ ભેદભાવ શક્તિ હોય છે અને તેનો ઉપયોગ વ્યક્તિઓ વચ્ચેના આનુવંશિક સંબંધોને ઓળખવા માટે થઈ શકે છે, જેમ કે માતાપિતા-બાળક અથવા ભાઈ-બહેન વચ્ચે, અને તેનો ઉપયોગ પિતૃત્વ પરીક્ષણમાં થાય છે. સજીવો વચ્ચે ઉત્ક્રાંતિ સંબંધો નક્કી કરવા માટે પણ આ તકનીકનો ઉપયોગ થઈ શકે છે. આમ ડીએનએનું વિસ્તરણ અને પરિમાણીકરણ, મેડિકલ અને ડાયગ્નોસ્ટિક એપ્લિકેશન, ચેપી રોગ એપ્લિકેશન, પેથોજેન્સની શોધ, ફોરેન્સિક એપ્લિકેશન્સ, ન્યુકલિક એસિડ પરીક્ષણો, સંશોધન કાર્યક્રમો વગેરે માં ઉપયોગ થાય છે.

**ફાયદા :** પીસીઆરના ઘણા ફાયદા છે. આ તકનીક ખૂબ જ સંવેદનશીલ છે અને સિક્વન્સિંગ, ક્લોનિંગ અને વિશ્લેષણ માટે ચોક્કસ ઉત્પાદનની લાખો થી અબજો નકલો ઉત્પન્ન કરવાની ક્ષમતા ધરાવે છે. પીસીઆર દ્વારા ઘણા રોગોના અજાણ્યા કારણોનો ક્રમ શોધવામાં આવી રહ્યો છે. આ તકનીક પહેલાથી જાણીતા વાયરસ સાથે સંબંધિત અગાઉના અજાણ્યા વાયરસના ક્રમને ઓળખવામાં મદદ કરી શકે છે અને આમ આપણને રોગની વધુ સારી સમજ આપે છે. જો પ્રક્રિયાને વધુ સરળ બનાવી શકાય અને સંવેદનશીલ નોન-રેડિયોમેટ્રિક શોધ પ્રણાલીઓ વિકસાવી શકાય છે.

**મર્યાદાઓ :** પીસીઆરની એક મુખ્ય મર્યાદા એ છે કે લક્ષ્ય ક્રમ વિશે અગાઉથી માહિતી જરૂરી છે જેથી પ્રાઈમર્સ જનરેટ થાય જે તેના પસંદગીયુક્ત એમ્પ્લીફિકેશનને મંજૂરી આપશે. આનો અર્થ એ છે કે, સામાન્ય રીતે, પીસીઆર વપરાશકર્તાઓએ બે સિંગલ-સ્ટ્રેન્ડેડ ટેમ્પ્લેટ્સમાંથી દરેક પર લક્ષ્ય પ્રદેશના અપસ્ટ્રીમના ચોક્કસ ક્રમ(ઓ) જાણતા હોવા જોઈએ જેથી ખાતરી કરી શકાય કે ડીએનએ પોલિમરેઝ યોગ્ય રીતે પ્રાઈમર-ટેમ્પ્લેટ હાઈપ્રિડ સાથે જોડાય છે અને ત્યારબાદ ડીએનએ સંશ્લેષણ દરમિયાન સમગ્ર લક્ષ્ય પ્રદેશ જનરેટ કરે છે.

બધા ઉત્સેચકોની જેમ, ડીએનએ પોલિમરેઝ પણ ભૂલ માટે સંવેદનશીલ હોય છે, જે બદલામાં પેદા થતા પીસીઆર ટુકડાઓમાં પરિવર્તનનું કારણ બને છે.

પીસીઆરની બીજી મર્યાદા એ છે કે દૂષિત ડીએનએની સૌથી નાની માત્રા પણ વિસ્તૃત થઈ શકે છે, જેના પરિણામે ગેરમાર્ગે દોરનારા અથવા અસ્પષ્ટ પરિણામો આવે છે. દૂષણની શક્યતા ઘટાડવા માટે, તપાસકર્તાઓએ રીએજન્ટ તૈયારી, પીસીઆર અને ઉત્પાદનના વિશ્લેષણ માટે અલગ રૂમ અનામત રાખવા જોઈએ. રીએજન્ટ્સને સિંગલ-યુઝ એલિકવોટ્સમાં વિતરિત કરવા જોઈએ. ડિસ્પોઝેબલ પ્લેટ્સ અને વધારાના-લાંબા પીપેટ ટીપ્સવાળા પીપેટર્સનો નિયમિત ઉપયોગ કરવો જોઈએ. વધુમાં, એ સુનિશ્ચિત કરવાની ભલામણ કરવામાં આવે છે કે લેબ સેટ-અપ એક દિશાહીન કાર્યપ્રવાહને અનુસરે છે. પીસીઆર અને વિશ્લેષણ રૂમમાં ઉપયોગમાં લેવાતી કોઈપણ સામગ્રી અથવા રીએજન્ટને સંપૂર્ણ ડિકન્ટેમિનેશન વિના પીસીઆર તૈયારી રૂમમાં ક્યારેય લઈ જવી જોઈએ નહીં.

### **Thin Layer Chromatography(TLC): અલગીકરણ:**

ક્રોમેટોગ્રાફીએ એક મહત્વ પૂર્ણ બાયોફિઝિકલ તકનીક છે જે ગુણાત્મક અને માત્રાત્મક વિશ્લેષણ માટે મિશ્રણના ઘટકોને અલગકરવા, ઓળખવા અને શુદ્ધિકરણને સક્ષમ બનાવે છે.

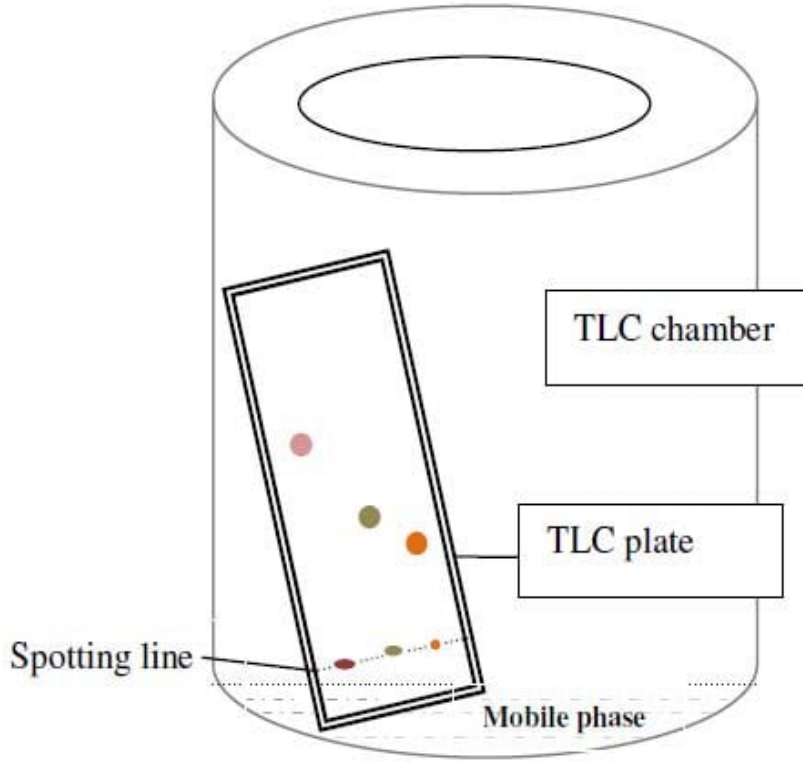
અલગકરવાની આ ભૌતિકપદ્ધતિમાં, અલગ કરવાના ઘટકોને બે તબક્કાઓ વચ્ચે વહેંચવામાં આવે છે, જેમાંથી એક સ્થિર (સ્થિરતબક્કો) છે, જ્યારે બીજો (મોબાઇલ તબક્કો) ચોક્કસ દિશામાં આગળ વધે છે. પસંદ કરેલ સ્થિરતબક્કો અને મોબાઇલ તબક્કાના આધારે, તે વિવિધ પ્રકારના હોઈ શકે છે.

**થિનલેયરક્રોમેટોગ્રાફી (TLC) શું છે?**

થિનલેયરક્રોમેટોગ્રાફીને પ્લેટ પર ફેલાયેલા બારીક વિભાજિત શોષકઘન/પ્રવાહી અને મોબાઇલફેઝ તરીકે પ્રવાહીનો ઉપયોગ કરીને ઘટકોના મિશ્રણને વ્યક્તિગત ઘટકોમાં અલગકરવાની અથવા ઓળખવાની પદ્ધતિ કહી શકાય.

**થિનલેયરક્રોમેટોગ્રાફી (TLC) નો સિદ્ધાંત:**

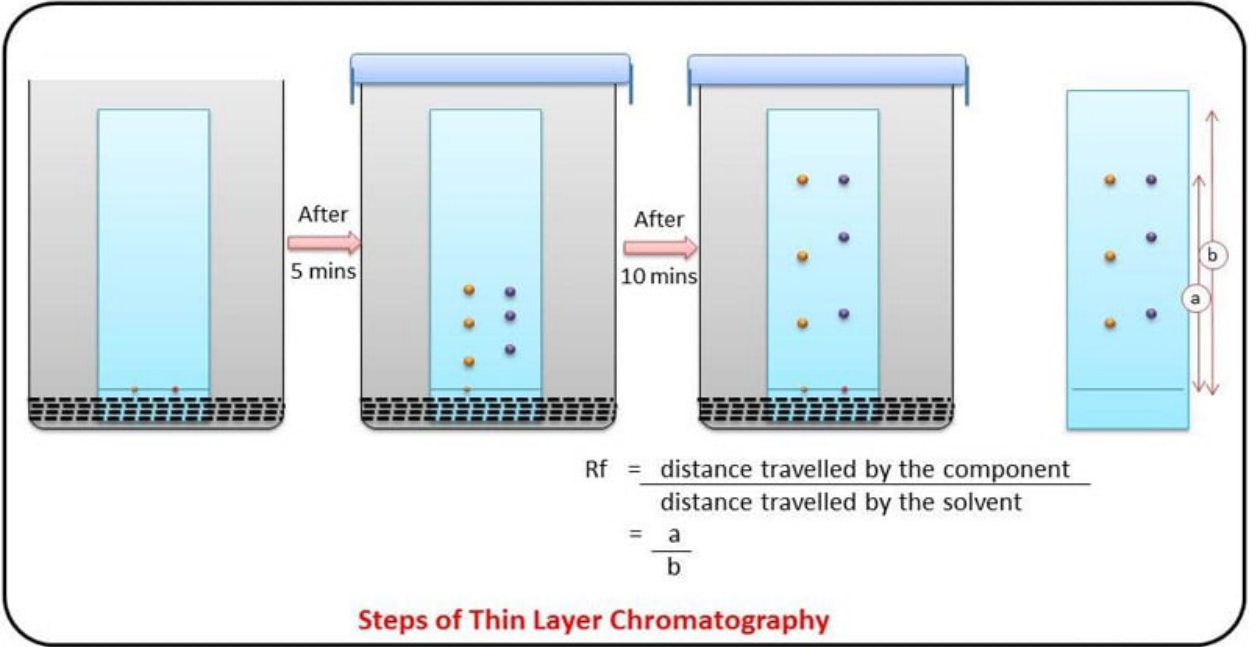
પાતળાસ્તરની ક્રોમેટોગ્રાફી કાચ, પ્લાસ્ટિક અથવા એલ્યુમિનિયમ ફોઇલની શીટ પર કરવામાં આવે છે, જે શોષક સામગ્રી, સામાન્ય રીતે સિલિકા જેલ, એલ્યુમિનિયમ ઓક્સાઇડ (એલ્યુમિના) અથવા સેલ્યુલોઝના પાતળા સ્તરથી કોટેડ હોય છે. શોષકના આ સ્તરને સ્થિર તબક્કો તરીકે ઓળખવામાં આવે છે.



- પ્લેટ પર નમૂના લાગુ કર્યા પછી, દ્રાવક મિશ્રણ (જેને મોબાઇલ તબક્કો તરીકે ઓળખવામાં આવે છે) વિવિધ વિશ્લેષકો TLC પ્લેટ પર અલગઅલગ દરે ચઢે છે, તેથી વિભાજન પ્રાપ્ત થાય છે.
- આમ તે શોષકક્રોમેટોગ્રાફી અથવા પાર્ટીશનક્રોમેટોગ્રાફી અથવા બંનેના સંયોજનના સિદ્ધાંત પર આધારિત છે, શોષક તેની સારવાર અને ઉપયોગમાં લેવાતા દ્રાવકોની પ્રકૃતિના આધારે સ્થિરતબક્કા પ્રત્યે વધુ આકર્ષણ ધરાવતા ઘટકો ધીમી ગતિએ મુસાફરી કરે છે. અને સ્થિર તબક્કા પ્રત્યે ઓછી આકર્ષણ ધરાવતા ઘટકો ઝડપથી મુસાફરી કરે છે.
- એકવાર વિભાજન થાય છે, ત્યારે વ્યક્તિગત ઘટકો પ્લેટ પર મુસાફરીના સંબંધિતસ્તરે ફોલીઓ તરીકે જોવામાં આવે છે. તેમની પ્રકૃતિ અથવા પાત્ર યોગ્યશોધ તકનીકોના માધ્યમથી ઓળખવામાં આવે છે.

#### પાતળાસ્તરનાક્રોમેટોગ્રાફીનાઘટકો:

1. TLC પ્લેટ્સ, પ્રાધાન્યમાં સ્થિર તબક્કા સાથે તૈયાર આ સ્થિર અને રાસાયણિક રીતે નિષ્ક્રિય પ્લેટો છે, જ્યાં તેના સમગ્ર સપાટી સ્તર પર સ્થિર તબક્કાનો પાતળો સ્તર લાગુ કરવામાં આવે છે. પ્લેટો પર સ્થિર તબક્કા એકસમાન જાડાઈને હોય છે અને તે સૂક્ષ્મકણોના કદમાં હોય છે.
2. TLC ચેમ્બર- આનો ઉપયોગ TLC પ્લેટના વિકાસ માટે થાય છે. ચેમ્બરમાં યોગ્યવિકાસ માટે અંદર એક સમાન વાતાવરણ જાળવે છે. તે દ્રાવકોના બાષ્પીભવનને પણ અટકાવે છે, અને પ્રક્રિયાને ધૂળ મુક્ત રાખે છે.
3. મોબાઇલ તબક્કો- આમાં દ્રાવક અથવા દ્રાવક મિશ્રણનો સમાવેશ થાય છે. TLC સ્પોટના યોગ્ય વિકાસ માટે ઉપયોગમાં લેવાતો મોબાઇલ તબક્કો કણ-મુક્ત અને ઉચ્ચતમ શુદ્ધતાનો હોવો જોઈએ. ભલામણ કરાયેલા દ્રાવકો નમૂના સાથે રાસાયણિક રીતે નિષ્ક્રિય હોય છે.
4. ફિલ્ટરપેપર- આ મોબાઇલ તબક્કો ભેજમુક્ત હોય છે, જે ચેમ્બરની અંદર મૂકવામાં આવે છે. આ સ્થિર તબક્કાની લંબાઈ પર મોબાઇલ તબક્કામાં એકસમાન વધારો વિકસાવવામાં મદદ કરે છે.



**થિનલેયરક્રોમેટોગ્રાફી (TLC) ની પ્રક્રિયા:**

સ્થિર તબક્કો પ્લેટ પર એક સરખી રીતે લાગુ કરવામાં આવે છે અને પછી તેને સૂકવવા અને સ્થિર થવા દેવામાં આવે છે. જોકે, આજકાલ, તૈયાર પ્લેટોનો વધુ ઉપયોગ થાય છે.

1. પેન્સિલ વડે, નમૂનાના સ્થળો માટે પ્લેટના તળિયે એક પાતળું ચિહ્ન બનાવવામાં આવે છે.
2. પછી, સમાન અંતરે રેખા પર ચિહ્નિત સ્થળો પર નમૂનાના ઉકેલો લાગુ કરવામાં આવે છે.
3. મોબાઇલ તબક્કો ચેમ્બરના તળિયેથી થોડા સેન્ટિમીટર ઉપર સમતળ કરવામાં આવે છે.
4. સમાન ભેજ જાળવવા માટે અને તેથી ધારની અસર ટાળવામાટે ચેમ્બરની આંતરિક દિવાલ પર મોબાઇલ તબક્કામાં ભેજવાળું ફિલ્ટરપેપર મૂકવામાં આવે છે.
5. હવે, નમૂનાસ્પોટિંગ સાથે તૈયાર કરેલી પ્લેટ TLC ચેમ્બરમાં મૂકવામાં આવે છે જેથી નમૂના રેખા વાળી પ્લેટની બાજુ મોબાઇલ તબક્કા તરફ હોય. પછી ચેમ્બરને ઢાંકણથી બંધ કરવામાં આવે છે.
6. પછી પ્લેટને ડૂબાડવામાં આવે છે, જેથી નમૂનાના સ્થળો વિકાસ માટે મોબાઇલ તબક્કાના સ્તરથી ઉપર હોય (ડ્રાવક ડૂબાડવામાં ન આવે).
7. સ્પોટના વિકાસ માટે પૂરતો સમય આપવામાં આવે છે.
8. પછી પ્લેટો દૂર કરવામાં આવે છે અને સૂકવવાદેવામાં આવે છે.
9. પછી નમૂનાના સ્પોટ યોગ્ય યુવીલાઇટ ચેમ્બરમાં અથવા આપેલ નમૂના માટે ભલામણ કરાયેલ કોઈપણ અન્ય પદ્ધતિઓમાં જોવામાં આવે છે.

TLC પ્લેટના પરિણામોને જોવા માટેની કેટલીક સામાન્ય તકનીકો:

1. યુવીપ્રકાશ
2. આયોડિનસ્ટેનિંગ : કાર્બોહાઇડ્રેટ્સ શોધવામાં ખૂબજ ઉપયોગી છે કારણકે તે આયોડિનના સંપર્કમાં કાળા થઈ જાય છે.
3.  $KMnO_4$  સ્ટેન (કાર્બનિક અણુઓ)
4. નિનહાઇડ્રિન રીએજન્ટ : ઘણીવાર એમિનોએસિડ અને પ્રોટીન શોધવા માટે વપરાય છે

**રીટેન્શનફેક્ટર (Rf) મૂલ્ય:**

- TLC પર સંયોજનનું વર્તન સામાન્ય રીતે તેની સંબંધિત ગતિશીલતા અથવા Rf મૂલ્યના સંદર્ભમાં વર્ણવવામાં આવે છે. દરેક સંયોજન માટે એક લાક્ષણિક મૂલ્ય, જે સંયોજન દ્વારા મુસાફરી કરેલા

અંતરને દ્રાવક ફ્રન્ટ દ્વારા મુસાફરી કરેલા અંતર દ્વારા વિભાજિત કરીને ગણતરી કરવામાં આવે છે.

Rf મૂલ્યની ગણતરી નીચેના સમીકરણનો ઉપયોગ કરીને કરવામાં આવે છે :

$Rf = \frac{\text{પદાર્થ (દ્રાવક) મુસાફરી કરેલ અંતર/સંયોજન (દ્રાવણ) દ્વારા મુસાફરી કરેલા અંતર}}{\text{થિનલેયરક્રોમેટોગ્રાફી (TLC) ના ઉપયોગો:}}$

૧. પ્રતિક્રિયાઓની પ્રગતિનું નિરીક્ષણ કરવા.

૨. સંયોજનો ઓળખવા જાણીતા ધોરણો સાથે અજાણ્યા સંયોજનોના Rf મૂલ્યોની તુલના કરીને, TLC મિશ્રણના ઘટકોને ઓળખવામાં મદદ કરી શકે છે.

૩. પદાર્થની શુદ્ધતા નક્કી કરવા.

૪. સિરામાઇડ્સ અને ફેટીએસિડ્સનું વિશ્લેષણ કરવા.

૫. ખોરાક અને પાણીમાં જંતુનાશકો અથવા જંતુનાશકોને શોધવા.

૬. ફોરેન્સિક્સમાં રેસાના રંગની રચનાનું વિશ્લેષણ કરવા.

૭. ફાર્માસ્યુટિકલ્સના ગુણવત્તા નિયંત્રણ, અશુદ્ધિઓ શોધવા અને દવાઓ ઓળખવા કરી શકાય છે.

૮. ઔષધીય છોડ અને તેમના ઘટકોની ઓળખ રાસાયણિક પ્રતિક્રિયાની પ્રગતિને ટ્રેક કરવા માટે કરી શકાય છે.

**ફાયદા:** તે એક સરળ પ્રક્રિયા છે જેમાં વિકાસનો સમય ઓછો છે.

• તે અલગ થયેલા સંયોજન સ્થળોને સરળતાથી જોવામાં મદદ કરે છે .

• તે મોટાભાગના સંયોજનોને અલગ કરવામાં મદદ કરે છે .

• અલગ કરવાની પ્રક્રિયા ઝડપી છે અને સંયોજનો માટે પસંદગી વધારે છે (રસાયણશાસ્ત્રમાં નાના તફાવત પણ સ્પષ્ટ અલગ કરવા માટે પૂરતા છે) .

• આપેલ નમૂનાના શુદ્ધતા ધોરણોનું મૂલ્યાંકન સરળતાથી કરી શકાય છે .

• તે એક સસ્તી ક્રોમેટોગ્રાફિક તકનીક છે .

**મર્યાદાઓ:**

તે એન્ટિઓમર્સ અને કેટલાક આઇસોમર્સ વચ્ચેનો તફાવત કહી શકતું નથી.

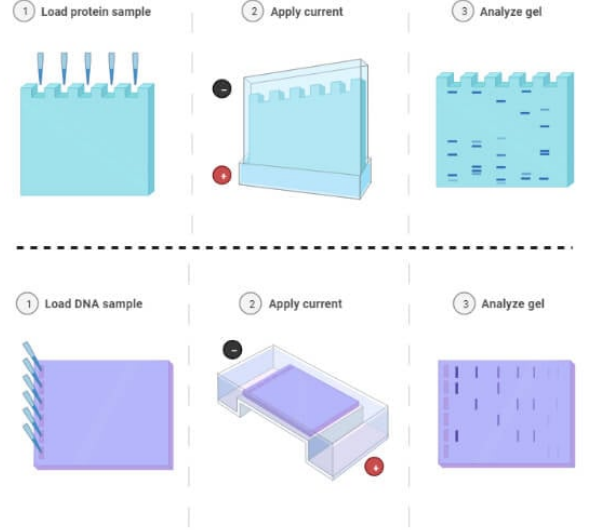
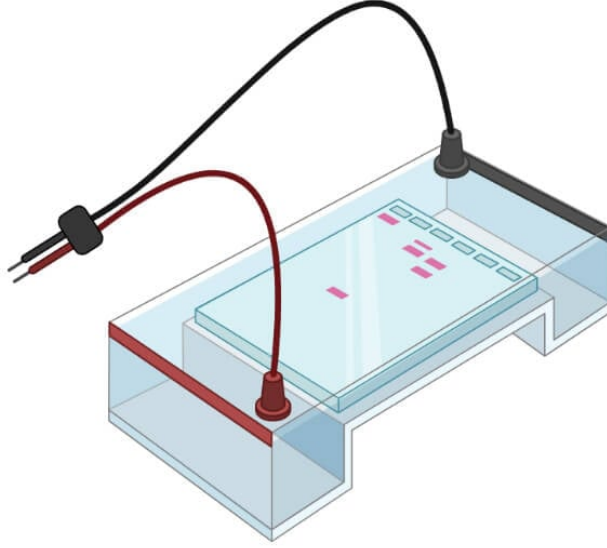
• ચોક્કસ સંયોજનોને ઓળખવા માટે, રસ ધરાવતા સંયોજનો માટે Rf મૂલ્યો પહેલાથી જ જાણતા હોવા જોઈએ .

• TLC પ્લેટોમાં લાંબા સ્થિર તબક્કાઓ હોતા નથી . તેથી, અન્ય ક્રોમેટોગ્રાફિક તકનીકોની તુલનામાં અલગ થવાની લંબાઈ મર્યાદિત છે .

**જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસિસ:**

ઇલેક્ટ્રોફોરેસિસ એ એક રાસાયણિક પ્રક્રિયા છે જેમાં દ્રાવણમાં રહેલો ઇલેક્ટ્રિક ચાર્જ, વિરોધી ઇલેક્ટ્રોડ તરફ વહે છે. 1930 ના દાયકામાં, સ્વીડિશ બાયોફિઝિસિસ્ટ આર્નેટિ સેલિયસે રક્ત પ્રોટીન પર સંશોધન કરતી વખતે ઇલેક્ટ્રોફોરેસિસ વિકસાવ્યું. 1948 માં, આર્નેટિ સેલિયસને ઇલેક્ટ્રોફોરેસિસ તકનીકમાં તેમના યોગદાન માટે રસાયણશાસ્ત્રમાં નવલકથા પુરસ્કાર મળ્યો. જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસિસ ડીએનએ, આરએનએ અથવા પ્રોટીન પરમાણુઓને તેમના ઇલેક્ટ્રિક ચાર્જ અથવા કદના આધારે અલગ કરવાની પ્રયોગશાળા પદ્ધતિઓમાંની એક છે.

# Gel Electrophoresis System



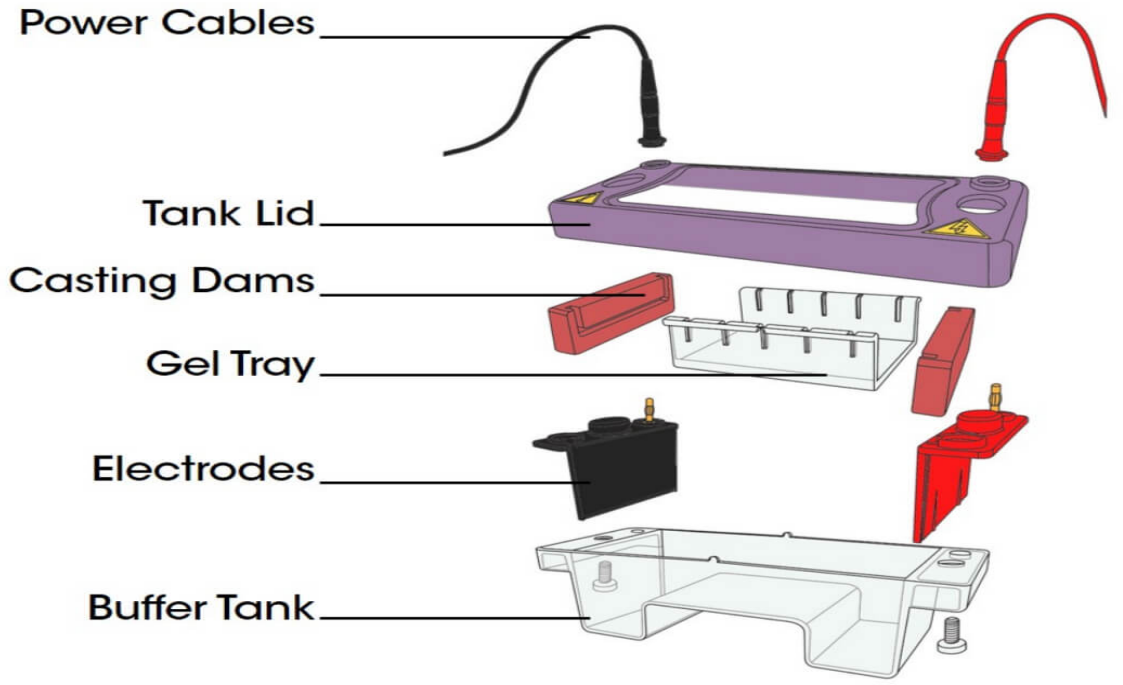
## જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસનો સિદ્ધાંત:

મોટાભાગના બાયોમોલેક્યુલ્સ આયનાઈઝેબલ કાર્યાત્મકજૂથો સાથે ઇલેક્ટ્રિકલી ચાર્જ કણો તરીકે અસ્તિત્વ ધરાવે છે. બાયોમોલેક્યુલ્સ ધરાવતા દ્રાવણમાં pH પર આધાર રાખીને ધન અથવા ઋણ ચાર્જ આયનો હોય છે. જ્યારે ચાર્જ થયેલા અણુઓને ઇલેક્ટ્રિક ફિલ્ડમાં મૂકવામાં આવે છે, ત્યારે તેઓ ધન અથવા ઋણ ધ્રુવની વિરુદ્ધ દિશામાં મુસાફરી કરે છે. દ્રાવણમાં દરેક કણના દળ અને ચોખ્ખાચાર્જના આધારે, ઇલેક્ટ્રિક ફિલ્ડના સંપર્કમાં આવવા પર આયનાઈઝેબલ બાયોમોલેક્યુલ્સ અલગ અલગ દરે સ્થળાંતર કરશે. ન્યુકલિક એસિડ જેવા નકારાત્મક ચાર્જવાળા કણો એનોડ તરફ ગુરુત્વાકર્ષણ કરે છે, જ્યારે સકારાત્મક ચાર્જવાળા કણો કેથોડ તરફ. દરેક ચાર્જ થયેલ કણ ગતિ અને દિશામાં ફેરફારને કારણે તેના ચોક્કસ ગુણધર્મ દ્વારા નિર્ધારિત પેટર્નમાં સ્થળાંતર કરશે, જે સમાન ગુણધર્મો ધરાવતા બાયોમોલેક્યુલ ઘટકોને અલગ કરે છે.

## જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ ઉપકરણના ભાગ:

**પાવર સપ્લાય:** ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ માટેની શરતો સતત પ્રવાહ, વોલ્ટેજ અથવા પાવર છે. સ્થળાંતર ગતિ જાળવવા માટે સ્થિર પ્રવાહનો ઉપયોગ કરવો જોઈએ. લાલ (એનોડ/પોઝિટિવ ચાર્જેલેક્ટ્રોડ) અને કાળા (કેથોડ/નેગેટિવ ઇલેક્ટ્રોડ) રંગોવાળા લીડકેબલ્સ પાવર સપ્લાયને જેલ બોક્સ સાથે જોડે છે. અને ઇલેક્ટ્રિક પ્રવાહ જેલ બોક્સને પહોંચાડે છે.

જો પ્રવાહ વધે છે, તો પ્રતિકાર દ્વારા વધુ ગરમી ઉત્પન્ન થાય છે, જેના કારણે ઓગળેલા આયનો થર્મલી હલનચલન કરે છે. ઉપકરણમાંથી પાણી વધુ ઝડપથી બાષ્પીભવન થશે. આના પરિણામે બફરમાં આયન સાંદ્રતા વધશે. કારણ કે DNA અને RNA નકારાત્મક રીતે ચાર્જ થયેલ છે, કાળો વાયર બોક્સના પાછળના ભાગમાં જોડાયેલ છે, જે તેમને જેલ બોક્સના આગળના ભાગમાં મુસાફરી કરે છે, જ્યાં હકારાત્મક રીતે ચાર્જ લાલ વાયર જોડાયેલ છે.



## Parts of Gel Electrophoresis Apparatus

**બર્ફર્સ:** બર્ફર સિસ્ટમના pH અને દ્રાવ્ય પર વિદ્યુત ચાર્જ સ્થાપિત કરે છે.

આદર્શ બર્ફરમાં નીચેના ગુણધર્મો છે:

1. વિશ્લેષકની ઓગળવાની ક્ષમતા જાળવી રાખે છે.
2. વિશ્લેષણ દરમ્યાન બર્ફરિંગ ક્ષમતા સતત રાખે છે.
3. તે ઇચ્છિત વિશ્લેષકોને શોધી કાઢવાથી અટકાવશે નહીં
4. વિભાજનની યોગ્ય શ્રેણી પ્રાપ્ત કરે છે.

બે પ્રકારના બર્ફર અસ્તિત્વમાં છે એસિડિક બર્ફર અને બેઝિક બર્ફર. ઓછા pH માટે, સાઈટ્રેટ, એસિટેટ, ફોર્મેટ અને ફોસ્ફેટ સહિત એસિડિક બર્ફર્સનો ઉપયોગ કરવામાં આવે છે. pH સ્તર ઊંચું રાખવા માટે ટ્રાઈક, બોરેટ અને ટ્રાઈસીન જેવા મૂળભૂત બર્ફર્સનો ઉપયોગ કરવામાં આવે છે.

**સપોર્ટ મીડિયા:**

સહાયક માધ્યમોમાં સ્ટાર્ચ, પોલીએક્રીલામાઇડ, એગારોઝ અને સેલ્યુલોઝ એસિટેટથી બનેલી શીટ્સ, સ્લેબ અને સ્ટંબોના રૂપમાં બનેલી પટલનો સમાવેશ થાય છે. તે એક કોલોઇડ છે જેમાં 90% થી વધુ પાણી હોય છે. તે એક મોલેક્યુલર ચાળણી તરીકે કામ કરે છે જેના દ્વારા અણુઓને અલગ કરવામાં આવે છે. નાના અણુઓ તેમાંથી પસાર થઈ શકે છે કારણ કે તે છિદ્રાળુ છે, જ્યારે મોટા અણુઓ પસાર થઈ શકતા નથી.

**સેલ્યુલોઝ એસિટેટ:** સેલ્યુલોઝથી બનેલા ફિલ્ટર પેપર્સ, સેલ્યુલોઝ એસિટેટ ઉત્પન્ન કરવા માટે એસિટિલેટેડ હોય છે. ગ્લુકોઝ રિંગના C-3 અને C-6 સ્થાનો સામાન્ય રીતે એવા છે જ્યાં એસિટિલેશન થાય છે. એગારોઝ અને પોલીએક્રીલામાઇડ જેવા અન્ય સામાન્ય ઇલેક્ટ્રોફોરેટિક મેટ્રિક્સની તુલનામાં, સેલ્યુલોઝ એસિટેટમાં મોટા છિદ્રો હોય છે.

**એગારોઝ:** એગારોઝ કુદરતી રીતે બનતું રેખીય પોલિમર છે જે ગેલેક્ટોઝ અને 3,6- એનહાઇડ્રો- ગેલેક્ટોઝ એઈનથી બનેલું છે. એગારોઝને સંગ્રહમાં સૂકા પાવડર તરીકે રાખવામાં આવે છે. DNA અને RNA અણુઓ વચ્ચે તફાવત કરવા માટે, એગારોઝ જેલનો વારંવાર 0.8% (W/V) થી 5% (W/V) પર

ઉપયોગ થાય છે. તેનું જેલિંગ તાપમાન ઓછું, તટસ્થ ચાર્જ છે અને તે સ્થિર જેલ બનાવે છે. આમ, તેને જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ માટે સંપૂર્ણ સામગ્રી માનવામાં આવે છે.

**પોલીએક્રીલામાઇડ:** તે એક સ્પષ્ટ, પારદર્શક જેલ છે જે ક્રોસલિંકિંગ એજન્ટ N, N- મેથિલીન- બિસ- એક્રિલામાઇડ (જેને "બિસ-એક્રિલામાઇડ" તરીકે પણ ઓળખવામાં આવે છે) ની હાજરીમાં એકેલિક એમાઇડમોનોમર્સનાકોપોલિમરાઇઝેશન દ્વારા રચાય છે. DNA અને પ્રોટીનને અલગ કરવા માટે સામાન્ય રીતે એક્રિલામાઇડ જેલ (3%-15%) ની થોડી માત્રાની જરૂર પડે છે.

**સોડિયમ ડોડેસીલસલ્ફેટ (SDS):** પોલીએક્રીલામાઇડ જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસમાં પ્રોટીનને તેમના કદ અનુસાર વિકૃત સ્થિતિમાં અલગ કરવામાં આવે છે, જ્યાં એક્રિલામાઇડ જેલ (10%-20%) ની ઊંચી ટકાવારી સામાન્ય રીતે ઉપયોગમાં લેવાય છે.

### **ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ એમ્બરો:**

તે એક પ્લાસ્ટિક કન્ટેનર અથવા ટાંકી છે જે બાયોમોલેક્યુલની ગતિને રોકવા માટે બફરથી ભરેલી હોય છે તેનું પારદર્શક ઢાંકણ સ્થળાંતર પ્રક્રિયાને જોવાનું સરળ બનાવે છે. તે પાવર સપ્લાય સાથે જોડે છે.

### **જેલને સ્ટેનિંગ અને ડિ-સ્ટેનિંગ માટે કન્ટેનર:**

જેલ સ્ટેનિંગ અને ડિ-સ્ટેનિંગ ટ્રે અને કન્ટેનરનો ઉપયોગ કરીને પૂર્ણ કરી શકાય છે.

તેમાં સામાન્ય રીતે પ્રોપીલીનબેઝ હોય છે. તેઓ પારદર્શક અને નજીકથી ફીટ કરેલા હોય છે.

તેઓ રસાયણો અને ડાઇ સામે પ્રતિરોધક હોય છે.

### **ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ:**

બે પ્લેટિનમ ઇલેક્ટ્રોડ્સ વિરુદ્ધ ચાર્જ સાથે ચાર્જ આકર્ષવાની ક્ષમતાને કારણે પરમાણુઓને અલગ કરવામાં મદદ કરે છે. ધન આયનો એનોડ દ્વારા બંધાયેલા હોય છે, જ્યારે કેથોડ નકારાત્મક આયનોને બાંધે છે.

**ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસના પ્રકારો:** જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસના ઘણા પ્રકારો છે, જેમ કે:

1. પેપર જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ
2. એગારોઝ જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ
3. પોલીએક્રીલામાઇડ જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ (PAGE)
4. પલ્સ-ફીલ્ડ જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ (PFGE)
5. 2D- ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ
6. ઇમ્યુનોઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ (રોકેટ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ)
7. ડિજેન્સ જેલ ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ (DIGE)

### **ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસની કાર્યપદ્ધતિ:**

જેલ સોલ્યુશન તૈયાર કરવું: ઉકળતા પાણીમાં ઓગાળીને જેલ તૈયાર કરવામાં આવે છે. વધુ આરામદાયક તાપમાને ઠંડુ થયા પછી, સોલ્યુશનને મોલ્ડ અથવા કેસ્ટર માર્ડવામાં આવે છે.

**જેલ કાસ્ટિંગ:** જેલ સેટ થયા પછી તેમાં ફૂવા બનાવવા માટે કાંસકોનો ઉપયોગ કરવામાં આવે છે. ત્યારબાદ જેલને ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ એમ્બરમાં દાખલ કરવામાં આવે છે. બફર એમ્બરને તેના કુલ વોલ્યુમના મહત્તમ એક તૃતીયાંશ સુધી ભરે છે.

**નમૂનાની તૈયારી:** નમૂનાને રંગ અને ઘનતા આપવા માટે, લોડિંગ ડાઈ ઉમેરવામાં આવે છે, જે ફ્લોરોસન્ટ ટેગ અથવા એથિડિયમ પ્રોમાઇડ હોઈ શકે છે.

**નમૂના લોડિંગ:** ફૂવામાં નમૂના લોડ કરવા માટે સ્વચ્છ માઇક્રોપીપેટનો ઉપયોગ કરવામાં આવે છે.

**ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ:** એમ્બર અને પાવર સપ્લાય જ્યાં વોલ્ટેજ સેટ કરવામાં આવે છે તે અનુક્રમે નકારાત્મક અને હકારાત્મક લીડ્સ દ્વારા જોડાયેલા હોય છે. જ્યારે પાવર સપ્લાય ચાલુ કરવામાં આવે છે ત્યારે

ઇલેક્ટ્રિક ક્ષેત્ર અને નકારાત્મક ચાર્જ કણો બનાવવામાં આવે છે. નકારાત્મક ચાર્જ થયેલ DNA એનો S તરફ સ્થળાંતર કરે છે કારણ કે પરમાણુઓ વિરોધી ચાર્જવાળા ઇલેક્ટ્રોસ્તરફ ગુરુત્વાકર્ષણ કરે છે.

ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસ, સ્ટેનિંગ અને વિઝ્યુલાઇઝેશન બંધ કરવું: ડાઇસ્થળાંતરને દૃષ્ટિની રીતે અનુસરી પાવર સપ્લાય બંધ કરવામાં આવે છે. પ્રક્રિયા પૂર્ણ થાય ત્યારે જેલ ઇમેજરનો ઉપયોગ કરીને જેલને સ્ટેન અને વિઝ્યુલાઇઝ કરવામાં આવે છે. નમૂનાના ટુકડાઓના કદની ધોરણ સાથે તુલના કરીને, તેમના કદની ગણતરી કરવા માટે પરમાણુ વજનના લોગરીધમનો ઉપયોગ કરવામાં આવે છે.

### ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસના ઉપયોગો:

1. ગુનાના દ્રશ્યો અને પિતૃત્વ પરીક્ષણની તપાસ કરવા માટે ડીએનએ ટુકડાઓને અલગ કરવા માટે ડીએનએ ફિંગરપ્રિન્ટિંગ માટે.
2. આરોગ્ય અને બીમારીમાં સામેલ આનુવંશિક ભિન્નતા અને પ્રોટીનની શોધ માટે.
3. વૈજ્ઞાનિક હેતુઓ માટે ન્યુકલિક એસિડ અને પ્રોટીનની શોધ અને શુદ્ધિકરણમાં થાય છે.
4. તે લોહી, અન્ય પેશીઓ અથવા ખોરાક જેવા સ્ત્રોતોમાં રોગકારક જીવાણુઓ શોધવામાં મદદ કરે છે.
5. તે મેક્રોમોલેક્યુલ્સ અને ઉત્ક્રાંતિ અભ્યાસોનું વિશ્લેષણ કરવા માટે બ્લોટિંગ પદ્ધતિઓમાં થાય છે.
6. તે પોલિમરેઇઝેઇશન રિએક્શન (PCR) ના પરિણામોના મૂલ્યાંકનને સરળ બનાવે છે. રસી વિકાસ અને ઉત્પાદન બંને ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસથી લાભ મેળવે છે.
7. પ્રજાતિઓ અને ઉત્ક્રાંતિ સંબંધોને અલગ પાડવા, વર્ગીકરણ-ડીએનએ પ્રોફાઇલિંગ કરવામાં આવે છે.

### ઇલેક્ટ્રોફોરેસીસના ફાયદા:

વાજબી રીતે સસ્તું એકદમ સરળ

કોઈપણ પ્રકારના પુરાવામાંથી ડીએનએનું પરીક્ષણ કરી શકે છે.

ઉત્તમ રીઝોલ્યુશન, pH, તાપમાન અને આયનીય શક્તિની વિશાળ શ્રેણીમાં સ્થિર

પ્રકાશથી પારદર્શક, રાસાયણિક રીતે નિષ્ક્રિય, વિદ્યુત તટસ્થતા અને હાઇડ્રોફિલિસિટી હોય છે.

### માઇક્રોટોમ:

માઇક્રોટોમી ગ્રીકમા માઇક્રોસ, જેનો અર્થ "નાનો" થાય છે, અને ટેમનીન, જેનો અર્થ "કાપવા" થાય છે એ એક કાપવાનું સાધન છે જેનો ઉપયોગ સામગ્રીના અત્યંત પાતળા ટુકડાઓ બનાવવા માટે થાય છે, આ પ્રક્રિયાને માઇક્રોસેક્શનિંગ કહેવામાં આવે છે. વિજ્ઞાન માં મહત્વપૂર્ણ, માઇક્રોટોમ્સનો ઉપયોગ માઇક્રોસ્કોપીમાં પ્રસારિત પ્રકાશ અથવા ઇલેક્ટ્રોન કિરણોત્સર્ગ હેઠળ નિરીક્ષણ માટે નમૂનાઓ તૈયાર કરવા માટે થાય છે.

માઇક્રોટોમ્સ સ્ટીલ, કાચ અથવા હીરાના બ્લેડનો ઉપયોગ કરે છે જે કાપવામાં આવતા નમૂના અને કાપવામાં આવતા ભાગોની ઇચ્છિત જાડાઈ પર આધાર રાખે છે. સ્ટીલ બ્લેડનો ઉપયોગ પ્રાણી અથવા છોડના પેશીઓના હિસ્ટોલોજીકલ વિભાગોને પ્રકાશમાઇક્રોસ્કોપી માટે તૈયાર કરવા માટે થાય છે. કાચના છરીઓનો ઉપયોગ પ્રકાશમાઇક્રોસ્કોપી માટે વિભાગોને કાપવા માટે અને ઇલેક્ટ્રોન માઇક્રોસ્કોપી માટે જૂનજ પાતળા વિભાગોને કાપવા માટે થાય છે. ઔદ્યોગિક ગ્રેડના હીરાના છરીઓનો ઉપયોગ હાડકા, દાંત અને કઠિન છોડના પદાર્થ જેવા સખત પદાર્થોને કાપવા માટે થાય છે, જેમકે પ્રકાશમાઇક્રોસ્કોપી અને ઇલેક્ટ્રોનમાઇક્રોસ્કોપી બંને માટે. રત્ન-ગુણવત્તાવાળા હીરાના છરીઓનો ઉપયોગ ઇલેક્ટ્રોનમાઇક્રોસ્કોપી માટે પાતળા વિભાગોને કાપવા માટે પણ થાય છે.

માઇક્રોટોમીએ હાડકાં, ખનિજો અને દાંત જેવા પદાર્થો માટે પાતળા વિભાગો તૈયાર કરવાની એક પદ્ધતિ છે, અને ઇલેક્ટ્રોપોલિશિંગ અને આયનમિલિંગનો વિકલ્પ છે. માઇક્રોટોમના છેદની જાડાઈ 50 nm અને 100 µm વચ્ચે હોય છે.



Rotary Microtome (C. Reichert, Vienna, 1905–1915)

### **માઇક્રોટોમ્સના કૌથી સામાન્ય ઉપયોગો છે:**

**પરંપરાગત હિસ્ટોલોજીકલનિક:** પેશીઓને સ્થિર, નિર્જલીકૃત, સાફ અને ઓગાળેલા પેરાફિનમાં જડિત કરવામાં આવે છે, જે ઠંડુ થાય ત્યારે ઘન બ્લોક બનાવે છે. ત્યારબાદ પેશીઓને માઇક્રોટોમમાં 2 થી 50  $\mu\text{m}$  સુધીની જાડાઈમાં કાપવામાં આવે છે. ત્યાંથી પેશીઓને માઇક્રોસ્કોપ સ્લાઇડ પર માઉન્ટ કરી શકાય છે, પેરાફિન દૂર કર્યા પછી યોગ્ય જલીય રંગ થી રંગવામાં આવે છે, અને હળવા માઇક્રોસ્કોપનો ઉપયોગ કરીને તપાસવામાં આવે છે.

**ફ્રોઝન સેક્શન પ્રક્રિયા:** પાણીથી ભરપૂર પેશીઓને ફ્રીઝિંગ દ્વારા સખત બનાવવામાં આવે છે અને ફ્રીઝિંગ માઇક્રોટોમ અથવા માઇક્રોટોમ-કાયોસ્ટેટનો ઉપયોગ કરીને ફ્રોઝન અવસ્થામાં કાપવામાં આવે છે; ભાગોને સ્ટેન કરવામાં આવે છે અને હળવા માઇક્રોસ્કોપથી તપાસવામાં આવે છે.

**ઇલેક્ટ્રોનમાઇક્રોસ્કોપી ટેકનિક:** ઇપોક્સીરેઝિનમાં પેશીઓને એમ્બેડ કર્યા પછી, ખૂબ જ પાતળા ભાગો સામાન્ય રીતે 60 થી 100 નેનોમીટર કાપવા માટે કાચ અથવા ગ્રેડાચમંડ છરીથી સજ્જ માઇક્રોટોમનો ઉપયોગ કરવામાં આવે છે. વિભાગોને યોગ્ય ભારે ધાતુના મીઠાના જલીય દ્રાવણથી રંગવામાં આવે છે અને ટ્રાન્સમિશન ઇલેક્ટ્રોનમાઇક્રોસ્કોપથી તપાસવામાં આવે છે. આ સાધનને ઘણીવાર અલ્ટ્રામાઇક્રોટોમ કહેવામાં આવે છે.

**બોટનિકલ માઇક્રોટોમી ટેકનિક:** લાકડું, હાડકા અને ચામડા જેવી કઠણ સામગ્રી માટે સ્લેજમાઇક્રોટોમ જરૂરી છે. આ માઇક્રોટોમમાં ભારે બ્લેડ હોય છે અને તે નિયમિત માઇક્રોટોમ જેટલા પાતળા કાપી શકતા નથી.

**લેસર માઇક્રોટોમ:** જે યાંત્રિક છરીને બદલે ફેમટો સેકન્ડ લેસરથી લક્ષ્ય નમૂનાને કાપી નાખે છે. આ પદ્ધતિ સંપર્ક-મુક્ત છે અને તેને નમૂના તૈયાર કરવાની તકનીકોની જરૂર નથી. લેસરમાઇક્રોટોમમાં લગભગ દરેક પેશીઓને તેની મૂળસ્થિતિમાં કાપવાની ક્ષમતા હોય છે. પ્રક્રિયા કરવામાં આવતી સામગ્રીના આધારે, 10 થી 100  $\mu\text{m}$  ની સ્લાઇસ જાડાઈ શક્ય છે.

### **વર્તમાન માઇક્રોટોમ ટેકનોલોજી:**

લેબોરેટરી ઓટોમેશન અને ચોકસાઈ એન્જિનિયરિંગમાં ઝડપી પ્રગતિને કારણે માઇક્રોટોમ માર્કેટ નોંધપાત્ર પરિવર્તનમાંથી પસાર થઈ રહ્યું છે. આધુનિક પ્રયોગશાળાઓ ટીશ્યુસેમ્પલ તૈયારીને વધારવા માટે રોટરીમાઇક્રોટોમ્સ, કાયોસ્ટેટમાઇક્રોટોમ્સ અને અલ્ટ્રામાઇક્રોટોમ્સ જેવી અદ્યતન માઇક્રોટોમસિસ્ટમ્સ અપનાવી રહી છે.

MI BOT 502 UNIT-4  
Himatnagar.

DR.J.S.PATEL, The HNSB. Ltd.Science College,

-----

