

புரத படிமமாக்கல் : வடிவ உயிரியலின் முதல் படி

பா. கனல் இளம்பரிதி & கி. குணசேகரன்

படிக மற்றும் உயிரி இயற்பியல் உயர் கல்வி மையம்
சென்னைப் பல்கலைக்கழகம், கிண்டி வளாகம், சென்னை - 600 025.

முன்னுரை :

எந்த மூலக்கூறின் முப்பரிமாண வடிவம் அறியப்பட வேண்டுமோ, அந்த மூலக்கூறினை படிமமாக்கிட வேண்டும் என்பதும் ப்ராக் விதியின் (Bragg's Law) படி X- கதிர் விளிம்பு விளைவை பயன்படுத்தி அந்த படிமத்தில் உள்ள மூலக் கூறின் வடிவம் கண்டுபிடிக்கப்படும் என்பதும் அறிந்ததே.

கரிம சேர்மங்கள் அல்லது கனிம சேர்மங்கள் அவற்க்குக்கந்த கரைப்பான்களில் கரைக்கப்பட்டு, மிக மெதுவாக, கரைப்பான் ஆவியாதல் மூலம் கரைசலின் கனஅளவு குறைக்கப்படுகிறது. இவ்வாறு செய்யும்போது மூலக்கூறு செறிவடைதல் மூலம் மீசெறிவு (super saturation) கட்டத்தை அடைகிறது. இந்நிலையில், மூலக் கூறுகள் நெருக்கம் அடைந்து படிமமாக ஆரம்பிக்கின்றன. இதையே படிக்கக் கரு உருவாதல் (nucleation) என்கிறோம். மேலும் கரைப்பானின் தன்மை, ஆவியாதல் வேகம், மூலக்கூறின் தனிச் சிறப்பு ஆகிய காரணிகளால் கரு எண்ணிக்கை (No of nucleation) நிர்ணயிக்கப்படுகிறது.

படிக கருவின் மேல் மேலும் மேலும் மூலக் கூறுகள் ஒன்றன் பின் ஒன்றாக படிந்து பெரிய ஒற்றை படிமத்தை உருவாக்குகிறது. வெப்பநிலை மாறுபாடு, அதிர்வு போன்ற சிறிய காரணிகள் இந்த படிம வளர்ச்சியை பாதிக்கின்றன. எழு படிக வகைகள் (Crystal System), 14 பின்னல்

(Lattice) வகைகள், 32 புள்ளி குழுக்கள் (point groups) ஆகிய முறைமைகளின் வேறுபட்ட இணைவுகளால் உருவாகும் 230 வகையான வகைவெளியின் (Space group) ஏதேனும் ஒரு அமைப்பில்தான் எந்த ஒரு மூலக்கூறும் படிமமாக முடியும் என்பது குறிப்பிடத்தக்கது.

புரதங்கள் உயிர்மூலக்கூறுகள் என்பதி லிருந்தே அவை எப்போதும் நீருக்கிடையே நிலைப்பெற்றிருக்கும் என்பது புரிந்திருக்கும். புரதங்கள் அமினோ அமில இணைப்புக்களால் உருவானவை என்பதும், பல்வேறு அயனிதன்மை கொண்ட வேதி தொகுப்புக்களை கொண்டுள்ளன என்பதும் அறிந்ததே. அதன் மூலம் நீரில் அதிக தொடர்புகளை (Interactions) உண்டாக்கி, நீரில் அதிக கரைதிரன் கொண்டவையாக புரதங்கள் விளங்குகின்றன.

புரதப்படிமமாக்கலும், சிறு மூலக்கூறு படிக வளர்ச்சியின் விதிகளின்படியே நிகழ்கிறது என்றாலும், வினைஇயக்கவியல் (Kinetics) மற்றும் வெப்பஇயக்கவியல் (Thermodynamics) காரணிகள் வெகுவாக வேறுபடுகின்றன. கீழ் காணும் காரணிகள் புரத படிமவளர்ச்சியை சிக்கலாக்குகின்றன.

➤ புரதத்தின் சிக்கலான முப்பரிமாண வடிவம் மற்றும் பரப்பில் ஏற்படும் பெரிய அசைவுகள் (flexible groups).

➤ புரத வடிவமைப்பால் புரதத்தில் அமையும்

மின்னியல் (Electrostatic) தன்மை

➤ குறைந்த நிலைத்தன்மை கொண்ட இயற்பியல்-வேதியல் (Physico-chemical) காரணிகள்

எனவே, ஒரு புரதம் இயற்கையான சூழலில் இருக்க தகுந்த வெப்பம், உப்பு, கார அமில அளவு மற்றும் சில அதி தேவையான (Specific) வேதிக்கூறுகளின் பங்கு இன்றியமையாததாகிறது.

புரதம் அதன் இயல்பான, செயல்படுள்ள மூலக்கூறு (Active molecule) இருக்க அதன் வடிவம் (Structure) பாதிப்படையாமல் இருக்க வேண்டியது அவசியமாகிறது. எனவே, புரத படிமமாக்கலில் ஒவ்வொரு புரதத்தின் இயற்பியல் மற்றும் வேதியல் பண்புகளை பொருத்து படிமமாக்கும் செயல்முறையில் நுட்பமான சில மாற்றங்களை உட்படுத்தவேண்டியது அவசியமாகிறது. இதன் முதற்படியாக புரதம் அதிக செறிவு (Highly concentrated) கொண்டதாக தயார் செய்யப்பட்டு படிமமாக்கல் முயற்சிக்கு உட்படுத்தப்படுகிறது.

பிரித்தெடுதல் :

எந்த புரதத்தின் வடிவம் கண்டறியப்பட வேண்டுமோ அது முதலில் தூய்மையாக பிரித்தெடுக்கப்பட வேண்டும். அந்த தூய புரதம் (pure protein) தகுந்த தமனிக் கரைசலில் (Buffer) இருக்கும்படி செய்து செறிவூட்டப்படுகிறது (Concentration). இந்த முயற்சியில் அதி-வடிகட்டு (Ultra filtration) சவ்வு பயன்படுத்தப்படுகிறது. ஒரு புரத கரைசலை 30 kDa சவ்வின் வழியே செலுத்தும் போது 30,000 மற்றும் அதற்கு மேல் மூலக்கூறு எடை உள்ள மூலக்கூறுகளை தவிர அனைத்து சிறு மூலக்கூறுகளும் (கரைப்பான் உட்பட) நீக்கப்படுகின்றன. இதன் மூலம் புரதமானது அதிக செறிவுகொண்ட புரத கரைசலாக கிடைக்கப்பெறுகிறது.

இவ்வாறு செறிவூட்டப்படும் எந்தவொரு புரதமும் குறைந்தபட்சம் 5 mg/ml செறிவிற்கு கொண்டு வரப்பட்டு படிமமாக்கல் சோதனைக்கு உட்படுத்தப்படுகிறது.

படிமமாத்தல் :

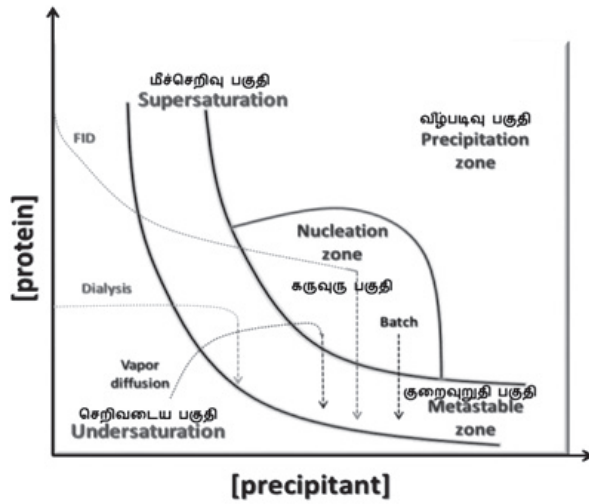
படிமமாத்தல் என்பதை திரவமாக உள்ள புரதத்தை அதன் கரைப்பான்களிடமிருந்து விடுவித்து மூலக்கூறுகளுக்கிடையேயான தொடர்பினை அதிகப்படுத்தி நெருக்கமாக்கி திட வடிவத்தில் கொணர்வது என்று கொள்ளலாம். புரதம் கரைப்பனிடம் அயனி-அயனி பிணைப்பில் இணைந்திருப்பதால், முதலில், இவ்வயனி-அயனி பிணைப்பை தளர்த்துவதனால் புரதம் வீழ்படிவாகிறது. இவ்வீழ்படிவாகும் செயல்முறையின் வேகத்தை கட்டுப்படுத்துவதன் மூலம் புரத படிமமாக்கல் சாத்தியமாகிறது.

படிம கட்ட வரைபடம்

இது படிமமாக்கலை விளக்கும் புரத செறிவிற்கு எதிரான வீழ்படிவியின் (precipitant) செறிவின் இருபரிமாண (2 dimensional), கட்ட வரைபடமாகும்.

செறிவுவெளி (concentration space), கரைதிறன் வளைவால் (Solubility curve) பிரிக்கப்பட்டு, புரத மற்றும் வீழ்படிவி கலப்பால் நிகழும் மாற்றங்களை விளக்குவதோடு, குறைசெறிவு மற்றும் மீசெறிவுபகுதிகளை தெளிவாக பிரிக்கிறது.

கரைதிறன் வளைவின் மீது உள்ள எந்த ஒரு புள்ளியும் வீழ்படிவின் செறிவோடு புரதம் சமநிலையை (Equilibration) எய்திருப்பதை குறிக்கிறது. மேலும் இந்த வளைவு படிம வளர்ச்சி அல்லது படிமம் கரைதலை குறிக்கிறது என கொள்ளலாம். இந்த வளைவுக்கு கீழ் புரத படிமமாத்தல் சாத்தியமில்லை என்பதை குறிக்கிறது. இந்த வளைவிற்கு மேல் வீழ்படிவியின் செறிவு சமநிலைக்கான தேவையின் செறிவிற்கு அதிகமாக உள்ளதை குறிக்கிறது.



1. வீழ்ப்படிவு பகுதி - புரதம் விரைவாக பிரிந்து உருவற்ற வீழ்ப்படிவு.
2. படிக்கருவுருவதால் பகுதி - கருவுருவாதல் - வீழ்ப்படிவு பகுதியை ஒட்டி இருக்கும் நிலையில் ஊசி படிக்கருவிகள் வீழ்ப்படிவாதல் நிகழும்
3. குறைவறுதி (Metastable) பகுதி - நீண்டநாட்களாக மீச்செறிவு நிலையிலேயே புரதம் இருப்பதை குறிக்கும் பகுதி. (அதிர்வு அல்லது கருவிதைத்தல் மூலமே படிக்கரு உருவாதலை ஊக்குவிக்கமுடியும்.)

வீழ்ப்படிவிப்பான்கள் (Precipitants)

வீழ்ப்படிவிப்பான்கள் என்பது புரதத்திற்கும் நீருக்கு இடையேயான நெருக்கத்தை குறைக்கும் காரணியாகும். பொதுவாக அம்மோனியம் சல்பேட் (Ammonium Sulphate) ஒரு சிறந்த வீழ்ப்படிவிப்பானாக பயன்படுத்தப்படுகிறது. புரத கரைசலில் அம்மோனியம் சல்பேட்டை சிறிது சிறிதாக சேர்க்கும் பொழுது புரதத்துடனான நீரின் பிணைப்பிணை குறைத்து புரதம் மீச்செறிவடைய காரணமாகிறது. தகுந்த தமனி கரைசலில் நிகழும் பொழுது படிக்கருவாதல் நடக்கிறது.

அம்மோனியம் சல்பேட், சோடியம் குளோரைட், சோடியம் பாஸ்பேட் போன்ற உப்பு களும், PEG, mPEG போன்ற நீர் விரும்பி பாலிமர் களும், எத்தனால், ஐசோ-பர்ப்பனால், ஆளுனு போன்ற கரிம கரைப்பங்களும் மற்றும் டியாக்சேன் (Dioxane), பாலியமின் (poly amine) போன்ற மூலக்கூறுகளும் புரத வீழ்ப்படிவிப்பான்களாக பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

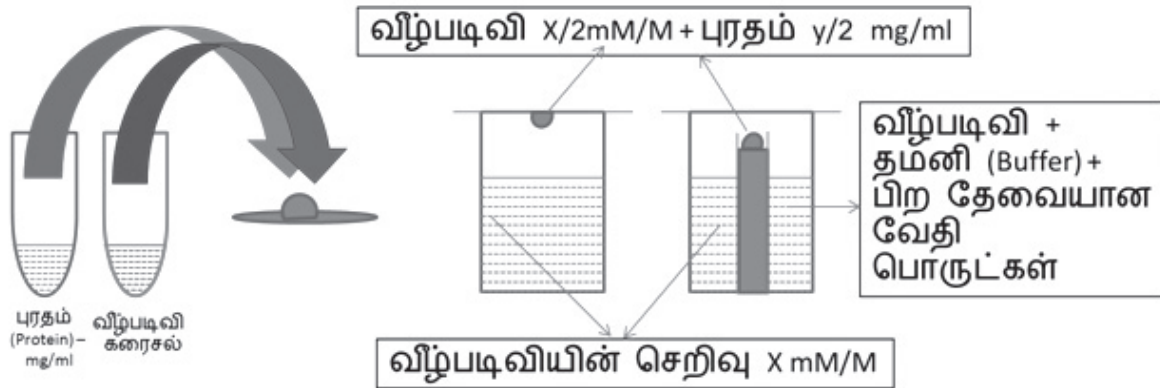
ட்ரிஸ், சோடியம் பாஸ்பேட், மெஸ், ஹிப்ஸ், அசிடேட், சிட்ரேட் போன்றவை புரத படிக்கருவிகளில் பொதுவாக பயன்படுத்தப்படும் தமனிகளாகும். உலோக அயனிகள், புறப்படி செயலிகள் (Surfactant) போன்ற மூலக்கூறுகளின் பயன்பாடுகளும் சில நேரங்களில் இன்றியமையாததாகிறது. மேலும் ஒரு புரதம் ஆக்ஸிஜனேற்றம் அடைவதாக இருந்தால் அதை தடுக்கும் காரணிகளின் (Reducing agent) பங்கும் படிக்கருவிகளுக்கு தேவைப்படுகிறது.

படிக்கருவிகளும் முறைகள் :

படிக்கருவிகளில் ஆவி பரவுதல் (vapour diffusion) முறை பொதுவாக பயன்படுத்தப்படுகிறது. அவற்றுள், தொங்கு துளி (Hanging drop), அமர் துளி (Sitting drop) மற்றும் இடையீட்டு துளி (Sandwich drop) ஆகிய செயல் முறைகள் குறிப்பிடத்தக்கன.

i) தொங்குதுளி (Hanging drop) :

தொங்குதுளி முறையில் வீழ்ப்படிவிப்பான், தமனி மற்றும் தேவையான மற்ற வேதி மூலக்கூறுகளை கொண்ட கரைசல் ஒரு 5 ml கொண்ட தொட்டியில் 1 ml வரை நிரப்பப்படுகிறது. புரத கரைசலை (1 μ l) சிலிக்கான் பூசப்பட்ட கண்ணாடி தகட்டின் மீது வைத்து அதனுடன் வீழ்ப்படிவி (Reservoir) கரைசல் (1 μ l) சேர்க்கப்படுகிறது. இதன் மூலம் புரதம் மற்றும் வீழ்ப்படிவிப்பான் அதன் ஆரம்ப செறிவில் (Initial concentration) பாதிக்காமல் குறைகிறது. இந்த தகடு, தொட்டியின் மீது தலைகீழாக மூடப்பட்டு மெழுகு கொண்டு காற்று புகாவண்ணம் அடைக்கப்படுகிறது. இந்த சூழலில் தொங்கு துளியின் வீழ்ப்படிவி தொட்டியில் உள்ள வீழ்ப்படிவிப்பானின் செறிவினை அடைய தொங்குதுளியின் புரத-வீழ்ப்படிவி கரைசலில் கரைப்பான் (நீர்) ஆவியதலை தூரிதப்படுத்துகிறது. இதன் மூலம் தொங்கு துளி சுருங்க ஆரம்பிக்கிறது. இதனால் புரதம் மெதுவாக நெருங்கி மீச்செறிவு அடையசெய்து படிக்கருவிகளாக எய்துகிறது. குறைந்த எண்ணிக்கையிலான படிக்கருக்கள் (Nucleation) உருவாகுவதன் மூலம் பெரிய அளவிலான படிக்கருக்கள் (0.1 mm - 1 mm) கிடைக்கப்பெறுகிறது.



ii) அமர்துளி (Sitting drop) :

அமர்துளி முறையில் புரதம் மற்றும் வீழ்ப்படிவி கலவை ஒரு சிறிய கனஅளவு கொண்ட கிண்ணத்தில் (5-15 μ l) வைக்கப்பட்டு, வீழ்ப்படிவி தொட்டியில் (Reservoir well) அழுத்தி வைக்கப்படுகிறது. மேலும் இம்முறையின் படிமமாக்கள் செயல்முறையும் தொங்குதுளி முறையின் படிமமாக்கள் செயல் முறையின் படியே செயல்படுகிறது.



(a) தொங்குதுளி

(b) அமர்துளி

iii) அடுக்கு முறை (Batch method) :

இம்முறையில் 1 அல்லது 2 μ l அளவிளான புரதத்துடன் ஒத்த அளவு கொண்ட வீழ்ப்படிவு கரைசலை சேர்த்து அதன் மீது சிலிகோன் எண்ணெயை (Silicon oil) பரவவிட்டு அந்த தொட்டியை காற்று புகாவண்ணம் மூடப்படுகிறது. இந்த முறையில் படிமாதல் நிகழ்வு ஆவி பரவுதல் (Vapour diffusion) செயல்முறையின் பற்றுவது இல்லை என்பது குறிப்பிடத்தக்கது.

iv) விதைத்தல் (Seeding)

மேற்கண்ட அனைத்து முறைகளிலும் புரதம் மெதுவாக, மென்மையாக வீழ்ப்படிந்து படிமம் உருவாகிறது. ஒரு படிமவியல் ஆராய்ச்சிக்கு

குறைந்தபட்சம் 0.1 x 0.1 x 0.1 mm அளவு கொண்ட படிமம் தேவைப்படுகிறது. பலகாரணிகளால், பலநேரங்களில் படிமாதல் நடைபெற்றும், போதுமான அளவில் படிமங்கள் கிடைக்காமல் போகிறது. உதாரணத்திற்கு படிமக்கரு எண்ணிக்கை அதிகமாக இருக்கும்போது பல (100) படிமங்கள் கிடைக்கப்பெற்றாலும் பெரிய படிமம் உருவாகுவது இல்லை. எனவே எந்த வீழ்ப்படிவிப்பான் படிமமாக்க பயன்படுகிறது என்பதோடு எந்த வீழ்ப்படிவாதல் வேகம் முக்கியமாகிறது.

தொங்குதுளியில் (Hanging drop) பெரிய படிமம் கிடைக்கப்பெறாதபோது அமர்துளி (Sitting drop) குறைந்த எண்ணிக்கையில் படிமக்கருக்களை கொடுத்து பெரிய படிமம் பெற வழிவகை புரிகிறது. சில சமயங்களில் எந்த ஒரு முறையும் பெரிய படிமங்களை கொடுக்காதபோது விதைத்தல் (Seeding) முறை பயன்படுத்தப்படுகிறது.

எந்த ஒரு வீழ்ப்படிவி கரைசல் பயன்படுத்தப்படும்போது மீச்சிறு படிமங்கள் உருவாகி வளராமல் போகிறதோ, அந்த மீச்சிறு படிமங்கள் சேகரிக்கப்பட்டு, நொருக்கப்பட்டு, மையவிலக்கி (Centrifugation) மூலம் படிமமும், படிமமாகத் புரதம் மற்றும் வீழ்ப்படிவி கரைசல் பிரித்தெடுக்கப்பட்டு, நொறுக்கப்பட்ட படிமம் சேகரிக்கப்படுகிறது. சேகரிக்கப்பட்ட படிமம் புதிய வீழ்ப்படிவி கரைசல் மூலம் மேற்கண்ட முறையில் இரண்டு அல்லது மூன்று முறை சுத்தம் செய்யப்பட்டு மீண்டும் சேகரிக்கப்படுகிறது. இவ்வாறு

சேகரிக்கப்படும் படிகம் “படிக விதை இருப்பு” (Seed stock) எனப்படுகிறது.

படிகம் உருவாகி அது வளராமல் போவதற்கு காரணம், அந்த சிறு படிகத்தின் புறபரப்பு வழவழப்பாகி அதன் மேல் புதிய மூலக்கூறுகள் சென்று இணைய முடியா வண்ணம் மாறுவதை பரப்பு செயலற்ற தன்மை (Surface passivation) என்கிறோம்.

எடுத்துகாட்டாக 3M அம்மோனியம் சல்பேட் வீழ்படிவி கரைசலில் சிறு படிகங்கள் உருவாகி வளராமல் போகும் சூழலில் அந்த படிகங்கள் சேகரிக்கப்பட்டு மற்றொரு குடுவையில் 3M க்கு சற்று குறைவான அம்மோனியம் சல்பேட் வீழ்படிவி கரைசலில் பலமுறை முங்கி எடுக்கப்பட்டு படிகத்தின் பரப்பு குறைவான அளவு சிதைக்கப்படுகிறது. இந்த படிகங்களை ஏற்கனவே 6 அல்லது 7 மணி நேரத்திற்கு முன்பு தொங்கு/அமர் துளி அமைப்பில் வைக்கப்பட்ட 3M அம்மோனியம் சல்பேட் மற்றும் புரத கலவியில் சேர்க்கப்படுகிறது. இதன் மூலம் சேர்க்கப்பட்ட விதை படிகத்தின் (பரப்பு சிதைந்த படிகங்கள்) மேல் புரதம் படிந்து பெரிய படிகங்கள் உருவாகின்றன. இம்முறை பெருவிதைதல் (Macro seeding) எனப்படுகிறது.

ஏற்கனவே குறிப்பிட்ட விதை சேகரிப்பில் (Seed stock) ஒரு பூனை மயிர் கொண்டு இலகுவாக தொட்டு அதை ஏற்கனவே வைக்கப்பட்ட தொங்கு/அமர் துளி அமைப்பில் தொடும்போது நொறுக்கப்பட்ட மீச்சிறு படிகங்கள் குறைவான

அளவில் விதைக்கப்பட்டு படிகவளர்ச்சி அடைகிறது. இந்த முறை சிறுவிதைத்தல் (Micro seeding) எனப்படுகிறது.

வீழ்ப்படிவி கரைசல்கள்

புரதங்கள் முப்பரிமாண முறையில் பிரிக்கப்பட்டு சகபினைப்பல்லாது பல்வேறு நுண்ணிய தொடர்புகளால் (Non-covalent interactions) ஒரு நிலையான வடிவம் பெறுகிறது என்பதும், அதனால், அந்த புரதம் பிரித்தெடுக்கப்படும் மற்றும் படிகமாக்கும் செயல்முறைகளில் இந்நுண்ணியத் தொடர்புகள் நீங்காமல் காப்பாற்றப்படவேண்டும் என்பதும் அறிந்ததே. இம்மாதிரியான நுண்ணிய தொடர்புகளை நிலைப்படுத்த படிகமாக்களில் சரியான வீழ்படிவிப்பான், அதன் செறிவு, தமனி கரைசல், அதன் செறிவு, உப்புக்கள் மற்றும் பல சேர்க்கைகள் (Additives) கொண்ட கலவை பயன்படுத்தப்படவேண்டும் என்பதும் நாம் அறிந்ததே.

இவ்வாறு வீழ்ப்படிவி கரைசல்களை பல்வேறு விகிதங்களில் தயாரித்து புரதத்துடன் சேர்த்து படிகமாக்கல் முயலப்படுகிறது. இது தகுந்த வீழ்ப்படிவி தேடல் (Crystal screen) எனப்படுகிறது. கட்ட தேடல் (Grid screen) :

உதாரணம்: அம்மோனியம் சல்பேட் வீழ்ப்படிவி யாக உள்ள கரைசல்கள் 24 தொட்டிகள் கொண்ட தட்டில் கீழ்க்கண்டவாறு நிரப்பப்பட்டு படிகமாக்கள் ஏதோனும் ஒரு செயல்முறையில் சோதனை செய்யப்படுகிறது.

		pH →					
		4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0
அம்மோனியம் சல்பேட்	15%	A2	A2	A3	A4	A5	A6
	30%	B1	B2	B3	B4	B5	B6
	45%	C1	C2	C3	C4	C5	C6
	60%	D1	D2	D3	D4	D5	D6

இதில் 5 அல்லது 6 நாட்களில் ஊ5 தொட்டியில் படிக்கங்கள் ஊசி அல்லது நுண்ணிய படிக்கங்களாகவோ அல்லது படிக்க வீழ்படிவாகவோ உருவாகுவது கண்டறியப்பட்டால், தகுந்த படிக்கவளர் கரைசல் தேடல் கீழ்க்காணும் முறையில் விரிவுபடுத்தப்படுகிறது.

		pH →					
		7.0	7.4	7.6	7.8	8.0	8.4
அம்மோனியம் சல்பேட்	35%	A2	A2	A3	A4	A5	A6
	40%	B1	B2	B3	B4	B5	B6
	45%	C1	C2	C3	C4	C5	C6
	50%	D1	D2	D3	D4	D5	D6

இதுபோல் PEG-4K, PEG-5K, PEG-10K, PEG-20K, MPD போன்ற வீழ்படிவிகள் பல்வேறு தமனி கரைசல் மற்றும் அவற்றின் யீழ் ற்கு எதிராக சோதிக்கப்படுகிறது.

மேற்கண்ட எடுத்துக்காட்டு ஒரு எளிய படிக்க வளர் கரைசல் தேடலாகும். ஆனால், உன்மையில் 10,000ற்கும் மேற்பட்ட படிக்கவளர் கரைசல்கள் பயன்பாட்டில் உள்ளன. இவை பல்வேறு நிறுவனங்களால் தயாரிக்கப்பட்டு விற்பனை செய்யப்படுகிறது. அவற்றுள் Hampton Research மற்றும் Molecular dimensions ஆகிய நிறுவனங்கள் குறிப்பிடத்தக்க படிக்க வளர் கரைசல் தயாரிப்பு நிறுவனங்களாகும். கீழ்க்காணும் பட்டியல் அந்நிறுவனங்களால் தயாரித்து விற்பனை செய்யப்படும் படிக்கவளர் கரைசல் தொகுப்புகளாகும்.

1. Hampton Research
 - a. HR2-110 Crystal Screen
 - b. HR2-112 Crystal screen-2
 - c. HR2-130 Crystal Screen HT
2. Molecular dimensions
 - a. JCSG-plus Screen-1
 - b. JCSG-plus Screen-2
 - c. JCSG- Strategy Screen-1
 - d. JCSG- Strategy Screen-2

மேலும் சில படிக்கவளர் கரைசல் தயாரிக்கும் நிறுவனங்களின் வலைதள முகவரி கீழே கொடுக்கப்பட்டுள்ளது.

<http://www.douglas.co.uk/mms.htm>

www.artrobbins.com/

www.formulatrix.com/

<https://www.hamptonresearch.com/>

<https://www.jenabioscience.com/>

<https://www.moleculardimensions.com/>

www.structmed.cimr.cam.ac.uk/Course/Crystals/screening.html

www.microspectra.com/

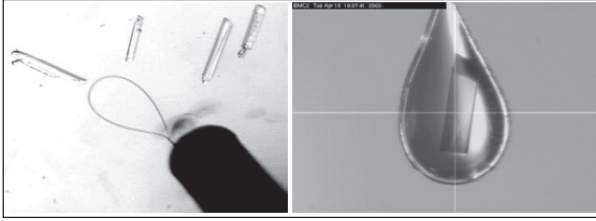
<https://www.biotechniques.com/>

அதி தாழ் குளிர்விப்பு (Cryo-cooling) :

கரிம, கனிம படிக்கங்களை போல் அல்லாமல் புரதங்களில் பொதுவாக 70% வரை தண்ணீரை கொண்டவைகளாக இருப்பதால் அவை படிக்கமாக்கல் கரைசலில் (வீழ்படிவிப்பான் + தமனி + புரதம்) இருந்து வெளியே எடுக்கும் போது உடனடியாக கரைந்துவிடும். எனவே, புரதப் படிக்கங்கள் அவை உருவான (படிக்க கரு உருவாகி வளர்ந்த) கரைசலின் தொடர்பிலேயே இருப்பது அவசியமாகிறது. எனவே இந்த கரைசல் MOTHER LIQUER (தாய் திரவம்) என்று குறிப்பிடப்படுகிறது.

புரத படிசுக் நெகிழ் கண்ணிகளால் (Flexible loop) எடுக்கப்பட்டு, X-கதிர் விளிம்பு விளைவு மானியில் (Diffractometer) வைக்கப்படுகிறது. கண்ணியில் படிசுக் தாய் திரவத்தின் பரப்பிழு விசையால் நிலைநிறுத்தப்படுகிறது.

மேலும், X-கதிர் ஊடுருவளால் ஏற்ப்படும் வெப்பத்தினால் படிசுக் கரைத்துவிடும் அபாயம் உள்ளது. எனவே கண்ணியால் அறுவடை (Harvest) செய்யப்பட்ட படிசுக் கண்ணிகளோடு திரவ N₂ (Liquid Nitrogen) இல் அமித்தப்பட்டு அதித்தாழ் குளிர்விப்பு (Cryo-cooling) செய்யப்படுகிறது.



படிசு அறுவடை (Harvest), கண்ணியில் படிசுக்

ஆதலால் படிசுமானது கண்ணிகளோடு விளிம்பு விளைவு மானியில் வைக்கப்பட்டு அதன் மேல் தொடர்ச்சியாக திரவ N₂ செலுத்தப்பட்டு விளிம்பு விளைவு தரவுகள் (Diffraction data) பெறப்படுகிறது.

முடிவுரை :

பல படிசுமாக்கல் செயல்முறைகளுக்கு பிறகு ஒரு புரதம் படிசுமாக்கப்பட்டு அவற்றின் முப்பரிமாண அமைப்பு X-கதிர் விளிம்பு விளைவு சோதனையின் மூலம் அறியப்பெறுகிறது. இது வரையிலான புரதமுப்பரிமாண தேடலில் 100000 திற்கும் மேற்பட்ட புரத முப்பரிமாண வடிவங்கள் படிசுமாக்கல் மற்றும் X- கதிர் விளிம்பு விளைவு சோதனையின் மூலம் கண்டறியப்பட்டுள்ளன.

மேலும், மருத்துவதுறையில் புதிய மருந்துகளை கண்டறியவும் அல்லது மனித மற்றும் எஞ்சிய உயிரினங்களில் உள்ள குறைகளை

களையவும், அதற்கு காரணமான புரதத்தின் செயல்பாடுகளை அறிவது அவசியமாகிறது. ஒரு புரதத்தின் செயல்பாடு அவற்றின் முப்பரிமாண அமைப்பை பொருத்து அமையும் என்பது அனைவரும் அறிந்ததே. பாக்கீரியா, பூஞ்சை, வைரஸ் மற்றும் மனித உடலில் பல்லாயிரக் கணக்கான புரதங்கள்கள் உள்ளன. பல்வேறு காரணங்களால் அப்புரதங்களின் முப்பரிமாண வடிவமறிதல் இன்றியமையாததாகிறது. இந்த ஆராய்ச்சியில், இந்தியாவில் பலநூறு அறிவியலாளர்களும், உலகளவில் பல்லாயிரக்கணக்கான அறிவியலாளர்களும் ஈடுபட்டுள்ளனர்.

இதுவரையிலான புரத முப்பரிமாண வடிவ தேடலில், NMR, Cryo Electron Microscopy மற்றும் X-கதிர் விளிம்பு விளைவு ஆகிய சோதனைகள் பயன்படுத்தப்பட்டு வருகின்றன. புரதம் படிசுமாதல் கடினம் என்றாலும், புரத படிசுங்கள் பயன்படுத்தப்படும் X-கதிர் விளிம்பு விளைவு சோதனையே புரத முப்பரிமாண வடிவ மரிய சிறந்த வழிமுறையாக உள்ளது.

மேலும், அறிவியலில் புரத முப்பரிமாண வடிவ தேடலின் முக்கியத்துவத்தால், புரதபடிசுமாக்கலில் உள்ள சிக்கல்களை களைவதில் பல்வேறு ஆராய்ச்சிகள் மேற்கொள்ளப்பட்டு வருகின்றன. அவற்றின் வெளிப்பட்டாக, ஓர் எளிய புரத படிசு மாக்கல் முறை வெளிகொணரப்படும் என்பது அனைவரின் எதிர்பார்ப்பாக உள்ளது.

இந்தியா, பல படிசு வளர்ச்சி அறிவியலாளர்களை (Crystal Growers) கொண்டுள்ளது. மேலும் அவ்வறிவியலாளர்கள் சிறு மூலக்கூறு படிசுமாக்களிலேயே அதிக கவனம் செலுத்துகின்றனர். இக்கட்டுரையின் மூலம், வருங்காலங்களில், மருத்துவ மற்றும் சமூக அளவில் முக்கிய ஆராய்ச்சி புலமாக விளங்கும் புரதபடிசுமாக்கலில் (Protein Crystallization) இளைய தலைமுறை ஆராய்ச்சியாளர்களின் மதிப்புமிக்க பங்களிப்பு எதிபார்க்கப்படுகிறது.

மேற்கோள்கள் :

1. Asherie, Neer. "Protein crystallization and phase diagrams." *Methods* 34, no. 3 (2004): 266-272.
2. Bergfors, Terese M., ed. *Protein crystallization*. Internat'l University Line, 2009.
3. Durbin, S. D., and G. Feher. "Protein crystallization." *Annual review of physical chemistry* 47, no. 1 (1996): 171-204.
4. Jarrett, Joseph T., and Peter T. Lansbury Jr. "Seeding "one-dimensional crystallization" of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie?." *Cell* 73, no. 6 (1993): 1055-1058.
5. McPherson, Alexander. "Introduction to protein crystallization." *Methods* 34, no. 3 (2004): 254-265.
6. McPHERSON, Alexander. "Review Current approaches to macromolecular crystallization." In *EJB reviews 1990*, pp. 49-71. Springer, Berlin, Heidelberg, 1990.
7. Vedadi, Masoud, Frank H. Niesen, Abdellah Allali-Hassani, Oleg Y. Fedorov, Patrick J. Finerty, Gregory A. Wasney, Ron Yeung et al. "Chemical screening methods to identify ligands that promote protein stability, protein crystallization, and structure determination." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, no. 43 (2006): 15835-15840.
8. Zheng, Bo, L. Spencer Roach, and Rustem F. Ismagilov. "Screening of protein crystallization conditions on a microfluidic chip using nanoliter-size droplets." *Journal of the American chemical society* 125, no. 37 (2003): 11170-11171