

STUDY METIRIALS

SUBJECT:-BOTANY

PAPER NAME:-GE3

TROPIC NAME-SOUTHERN

BLOTTING TECHNIQUE

PRESENTED BY RAJU PARIA

SOUTHERN BLOTTING সম্পর্কে যাহা জান লেখ?

SOUTHERN BLOTTING HYBRIDIZATION OR TECHNIQUE

যে পদ্ধতির মাধ্যমে জেল ইলেক্ট্রোফোরেসিস পদ্ধতিতে পৃথকীকৃত DNA খণ্ডগুলির মধ্য থেকে নির্দিষ্ট DNA খন্ডক গুলিকে সনাক্ত করা হয় ,তাকে সার্দান ব্লটিং টেকনিক বলে

এই পদ্ধতির আবিষ্কার করেন Edwin Southern,সেজন্য তাঁর নামানুসারে এই পদ্ধতিকে সার্দান ব্লটিং টেকনিক বলা হয়।

Requirements

1. আগারোজ জেল
2. অভিন্ন ছিদ্রযুক্ত সেলুলোজ নাইট্রেট বা নাইট্রোসেলুলোজ ঝিল্লি ফিল্টার।
3. DNA দাগ দেওয়ার জন্য ইথিডিয়াম ব্রোমাইড
4. এনজাইম: Restrictions endonuclease, RNase- A
5. ডিএনএ লোডিং বাফার, ইলেক্ট্রোফোরেসিসের জন্য TBE বাফার,

Procedure:-

সার্দানব্লটিং টেকনিক নিম্নলিখিত বিভিন্ন পর্যায়ের মাধ্যমে সম্পূর্ণ করা হয়-

1. Sample collection and purification
2. RD/Restrictions dization
3. Separation
4. Depurination
5. Denaturation
6. Blotting
7. Baking
8. Hybridization
9. Autoradiograph

Sample collection and Purification:-

দেহকোশ ,রক্তকণিকা,কেশমূল বা শুক্রানুর নমুনা থেকে DNA পৃথক করা হয়।

Rd/Restrictions dization:-

এরপর DNA এক বা একাধিক রেস্ট্রিকশন এন্ডোনিউক্লিয়েজ উৎসেচক দ্বারা খন্ডিত করা হয়।

Separation:-

এরপর বিভিন্ন রেস্ট্রিকশন এন্ডোনিউক্লিয়েজ উৎসেচক দ্বারা খন্ডিত DNA অংশগুলিকে আলাদা আলাদা ভাবে জেল ইলেকট্রোফোরেসিসে চালনা করা হয়।

Depurination:-

এই পর্যায়ে নমুনা গুলিকে আরো ক্ষুদ্র এবং স্পেসিফিক করা হয়। এক্ষেত্রে গাঢ় HCl ব্যবহার করা হয়।

Denaturation:-

জেল ইলেকট্রোফোরেসিস সম্পূর্ণ হলে জেল মধ্যস্থ DNA খন্ডগুলির প্রতিটির দুটি শৃঙ্খল H-বন্ধন মুক্তির মাধ্যমে আলাদা হয়ে এক শৃঙ্খলযুক্ত হয়, DNA এর এইরূপ ডিন্যাচুরেশন ক্ষারীয় দ্রবণের (NaOH) উপস্থিতিতে করা হয়।

Blotting:-

1. অতঃপর জেলটিকে দ্রুত বাফার দ্রবণে সিঁড়ি ফিল্টার কাগজের উপর স্থাপন করা হয়। ফিল্টার কাগজটিকে একটি কাঁচের প্লেটের উপর এমন ভাবে রাখা হয় যাতে ফিল্টার কাগজের মুক্ত প্রান্তদ্বয় বাফার দ্রবণে নিমজ্জিত থাকে।
2. একটি নাইট্রোসেলুলোজ পর্দা বা NC পর্দা জেল এর উপরিতলে রাখা হয় এবং NC পর্দার উপর একগুচ্ছ কাগজকে স্তরে স্তরে সাজিয়ে তার উপরে 500 গ্রাম ওজনের একটি বস্তু চাপিয়ে দেওয়া হয়।
3. ফিল্টার কাগজ দ্বারা শোষিত বাফার দ্রবণ জেলের মধ্য দিয়ে NC পর্দার পৌঁছায় এবং সর্বশেষে কাগজের স্তূপের দ্বারা বাফার দ্রবণ শোষিত হয়।
4. বাফার দ্রবণ যখন জেলের মধ্য দিয়ে NC পর্দা হয়ে কাগজের স্তূপ কর্তৃক শোষিত হয় তখন একতন্ত্রী DNA জেল এর মধ্য থেকে বাফার কর্তৃক বাহিত হয়ে NC পর্দায় আটকে যায়, সমগ্র পরীক্ষা ব্যবস্থাটিকে এইভাবে কয়েক ঘন্টা বা সমগ্র রাত্রিব্যাপি রেখে দেওয়া হয়। তারপর কাগজের স্তূপকে সাবধানে সরিয়ে ফেলে দেওয়া হয়।

Baking:-

একতন্ত্রী DNA শৃঙ্খল গুলিকে NC পর্দার স্থায়ীভাবে আটকে দেওয়ার জন্য একতন্ত্রী DNA সহ NC পর্দাটিকে 80°C সেন্টিগ্রেড উষ্ণতায় 2-3 থেকে ঘন্টা উত্তপ্ত করা হয়। এর ফলে জেল মধ্যস্থ একতন্ত্রী DNA খণ্ডগুলি NC পর্দায় জেল এর অন্যান্যরূপে স্থানে আটকে গিয়ে জেল এর ন্যায় DNA ব্যান্ড তৈরি করে।

Hybridization:-

1. তারপর DNA ব্যান্ডসহ NC পর্দা তেজস্ক্রিয়ভাবে চিহ্নিত DNA এর সঙ্গে সংকরায়নের জন্য ব্যবহার করা হয়।

2. সংকরায়নের পর NC পর্দার সঙ্গে যুক্ত একতন্ত্রী DNA গুলি কে NC পর্দা থেকে বিযুক্ত করার জন্য NC পর্দা কে বাফার দ্রবণে ধুয়ে ফেলা হয়। বাফার দ্রবণে ধৌত করার পর NC পর্দায় শুধুমাত্র সংকর DNA খণ্ডগুলি আটকে থাকে।

Autoradiograph:-

তারপর X-ray ফিল্ম দ্বারা সংকরায়িত NC পর্দাকে আবৃত করলে যে অটোরডিওগ্রাফ পাওয়া যায় তা থেকে সংকট DNA অবস্থান জানা যায়।

APPLICATION OF SOUTHERN BLOTTING HYBRIDIZATION OR TECHNIQUE

সাউদার্ন ব্লটিং একটি নির্দিষ্ট ক্রম শনাক্ত করার জন্য আকাঙ্ক্ষিত জীবের জিনোম বিশ্লেষণ করতে ব্যবহৃত হয়। Southern blotting নিম্নলিখিত ভাবে ব্যবহার করা যেতে পারে-

1. মিউটেশন এবং জিন পুনর্বিন্যাস অধ্যয়ন করতে, নবজাতকের রোগ এবং জেনেটিক রোগ নির্ণয় করতে ব্যবহৃত হয়।
2. ফাইলোজেনেটিক স্টাডিতে, রিকম্বিন্যান্ট DNA প্রযুক্তি, পিতৃ ও মাতৃ বিশ্লেষণ, ফরেনসিক অধ্যয়ন এবং ব্যক্তিগত সনাক্তকরণ।
3. DNA-তে একটি নির্দিষ্ট লক্ষ্য অনুক্রমের উপস্থিতি বা অনুপস্থিতি প্রদর্শন করতে,
4. ক্রোমোজোমাল Integration ঘটেছে কিনা তা নির্ধারণ করতে,
5. ইমিউনোলজিতে, ইমিউনোগ্লোবুলিনের ক্লোনাল পুনর্বিন্যাস,
6. একটি জিনের গঠন অধ্যয়ন করতে বা সীমাবদ্ধতা এনজাইম মানচিত্র ব্যাখ্যা করতে।
7. ট্রান্সজিন এর অনুলিপি সংখ্যা নির্ধারণ করতে,

