

# इकाई नौ जैव प्रौद्योगिकी

## अध्याय 11

जैव प्रौद्योगिकी—सिद्धांत व प्रक्रम

## अध्याय 12

जैव प्रौद्योगिकी एवं उसके उपयोग

17वीं शताब्दी के फ्राँसीसी दार्शनिक, गणितज्ञ तथा जीव वैज्ञानिक रेनी डैसकार्टीज के दिनों से ही समस्त मानव ज्ञान विशेषकर प्रकृत विज्ञान प्रौद्योगिकी के विकास की ओर निर्दिष्ट हुआ; परिणामस्वरूप मानव के जीवन में सुख-साधनों तथा नैतिक मूल्यों में वृद्धि हुई। इस प्रकृत घटना को समझने के तमाम उपगमन मानवोद्भवी बन चुके हैं। भौतिकी तथा रसायन विज्ञान ने अभियांत्रिकी, प्रौद्योगिकी तथा औद्योगिकी को जन्म दिया। इन सभी ने मिलकर मानव सुविधाओं तथा उनके कल्याण के लिए कार्य किया। जैव वैज्ञानिक संसार का मुख्य उपयोग खाद्य के स्रोत के रूप में हो रहा है। जैव प्रौद्योगिकी 20वीं शताब्दी में आधुनिक जीव विज्ञान की प्रशाखा है, जिसने हमारी रोजाना की ज़िंदगी में परिवर्तन ला दिए हैं जीव विज्ञान के उत्पादों ने स्वास्थ्य में गुणात्मक तथा खाद्य उत्पादन में सुधार पैदा कर दिये हैं। जैव प्रौद्योगिकीय प्रक्रमों के मूल भूत सिद्धांतों तथा इनमें कुछ उपयोगों को इस ईकाई में उजागर किया गया तथा उनपर विचार-विमर्श किया गया है।





हरबर्ट बोयर  
(1936)

हरबर्ट बोयर का जन्म 1936 में हुआ तथा उनका पालन-पोषण पश्चिमी पैनसिलवेनिया के एक कोने में जहाँ रेल, सड़कें तथा सुरंगें आदि अधिकांश किशोर व्यक्तियों की नियति थी। पिट्सबर्ग के विश्वविद्यालय में इन्होंने अपना स्नातक अध्ययन समाप्त किया तथा वर्ष 1963 में येल में तीन वर्षों तक इन्होंने स्नात्कोत्तर अध्ययन में बिताए।

वर्ष 1966 में बोयर ने सैन फ्रांसिसको स्थित केलीफोर्निया विश्वविद्यालय में सहायक प्राध्यापक का कार्यभार ग्रहण किया। 1969 तक इन्होंने विशिष्ट लाभदायक गुणों से युक्त ई.कोलाई बैक्टीरियम के प्रतिबंध एंजाइम पर अध्ययन संपन्न किया। बोयर ने पाया कि इन एंजाइमों में डीएनए स्ट्रैंडों को एक विशेष आकृति में काटने की क्षमता होती है और जो शेष बचता है वह स्ट्रैंड पर 'चिपचिपा शीर्ष' कहलाता है। यह कथित शीर्ष सुस्पष्ट अभ्यास में डीएनए के टुकड़ों के साथ जुड़ जाते हैं।

इस खोज के परिणामस्वरूप हवाई स्थित स्टैनफोर्ड वैज्ञानिक स्टैनले कोहेन के मध्य बहुमूल्य तथा लाभदायक विचार-विमर्श हो सका। कोहेन डीएनए के छोटे-छोटे रिंगलैट्स जिन्हें प्लाज्मिड कहते हैं पर कार्य कर रहे थे। यह प्लाज्मिड कुछ विशेष जीवाणुवीय कोशिकाओं के कोशिकाद्रव्य में मुक्त रूप से तैरते रहते हैं तथा डीएनए के कोडिंग स्ट्रैंड से स्वतंत्र रूप में प्रतिकृत करते हैं। कोहन ने कोशिकाओं से इन प्लाज्मिडों को हटाने तथा इन्हें फिर से अन्य कोशिकाओं में भेजने की विधि विकसित की। डीएनए संघटन का इस प्रक्रम के साथ जुड़ने के कारण बोयर तथा कोहन वांछित विन्यास में डीएनए के खंडों को पुनर्योजित तथा जीवाणुवीय कोशिकाओं में डीएनए का सन्निवेश तथा आगे चलकर विशिष्ट प्रोटीनों के लिए उत्पादनशील पादपों के रूप में कार्य कर सकना। यह सफलता जैव प्रौद्योगिक विषय का मूलभूत आधार है।

## अध्याय 11



# जैव प्रौद्योगिकी- सिद्धांत व प्रक्रम

- 11.1 जैव प्रौद्योगिकी के सिद्धांत
- 11.2 पुनर्योगज डी एन ए तकनीक के साधन
- 11.3 पुनर्योगज डी एन ए तकनीक के प्रक्रम

**जैव प्रौद्योगिकी** (बायोटेक्नॉलजी) में उन तकनीकों का वर्णन मिलता है जिसमें जीवधारियों या उनसे प्राप्त एंजाइमों का उपयोग करते हुए मनुष्य के लिए उपयोगी उत्पाद या प्रक्रमों (प्रोसेस) का विकास किया जाता है। डबल रोटी, शराब इत्यादि सभी, सूक्ष्म जीवों द्वारा संपन्न प्रक्रमों से बनते हैं। यह भी एक प्रकार से जैव प्रौद्योगिकी का परिणाम है। वर्तमान समय में, सीमित अर्थ में जैव प्रौद्योगिकी को देखा जाए तो इनमें वे प्रक्रम आते हैं; जिनमें आनुवंशिकतः रूपांतरित (जेनेटिकली मोडीफाइड) जीवों का उपयोग उपर्युक्त पदार्थों को अधिक मात्रा में उत्पादन के लिए किया जाता है। आगे चलकर अनेक प्रक्रमों / तकनीकों का समावेश जैव प्रौद्योगिकी में किया गया। उदाहरणार्थ- **पात्रे (इन वीट्रो)** निषेचन द्वारा परखनली शिशु का निर्माण, जीन का संश्लेषण एवं उपयोग, डीएनए टीका का निर्माण या दोषयुक्त जीन का सुधार, ये सभी जैव प्रौद्योगिकी के ही भाग हैं।

यूरोपीय जैव प्रौद्योगिकी संघ (इ एफ बी) द्वारा जो जैव प्रौद्योगिकी की परिभाषा दी गयी है, उसमें दोनों परंपरागत विचार व आधुनिक आणविक जैव प्रौद्योगिकी का समावेश है। इ एफ बी द्वारा दी गयी परिभाषा निम्नवत् है- 'नए उत्पादों तथा सेवाओं के लिए। प्राकृतिक विज्ञान व जीवों' कोशिकाओं व इसके अंग तथा आणविक अनुरूपों का समायोजन।



## 11.1 जैव प्रौद्योगिकी के सिद्धांत

आधुनिक जैव प्रौद्योगिकी के विकास में निम्न दो प्रमुख तकनीकों का योगदान है। ये हैं;

- (क) **आनुवंशिक इंजीनियरिंग**— इस तकनीक द्वारा आनुवंशिक पदार्थों (डीएनए या आरएनए) के रसायन में कर इसे परपोषी जीवों (होस्ट आर्गेनिज़्म) में प्रवेश कराकर इसके समलक्षणी (फीनोटाइप) में परिवर्तन करते हैं।
- (ख) **जैव प्रक्रम रासायनिक इंजीनियरिंग प्रक्रमों में रोगाणुरहित** (सूक्ष्म जीव संदूषण रहित) वातावरण बनाकर केवल वांछित सूक्ष्मजीवों / सुकेंद्रकी कोशिकाओं में वृद्धिकर अधिक मात्रा में जैव प्रौद्योगिकी उत्पादों जैसे- प्रतिजैविकों (एंटीबायोटिक), टीके, एंजाइमों आदि का निर्माण किया जाता है।

अब आनुवंशिक इंजीनियरिंग के सिद्धांतों के संकल्पनात्मक विकास के बारे में अध्ययन करेंगे। संभवतः आप अलैंगिक जनन (रिप्रोडक्शन) की अपेक्षा लैंगिक जनन के फायदों के बारे में जानते हैं। अलैंगिक जनन आनुवंशिकी सूचनाओं को परिरक्षित रखता है जबकि लैंगिक जनन द्वारा विभिन्नता व विशिष्ट आनुवंशिक व्यवस्था के संयोजन के प्रतिपादन का अवसर मिलता है जो जीव या आबादी हेतु लाभकारी हो सकता है। लैंगिक जनन से विभिन्नता उत्पन्न होती है। परंपरागत संकरण की विधियाँ जो पौधों एवं जंतुओं के जनन में उपयोगी हैं, इनके द्वारा वांछित जीन के साथ-साथ अवांछित जीन का समावेश व गुणन भी हो जाता है। उपर्युक्त कमियों को दूर करने हेतु आनुवंशिक इंजीनियरिंग तकनीकों में **जीन क्लोनिंग** एवं **जीन स्थानांतरण** का उपयोग कर **पुनर्योगज डीएनए** (रीकॉम्बिनेंट डीएनए) का निर्माण किया जाता है जिससे, बिना अवांछित जीनों के केवल एक या एक से अधिक वांछित जीन को चुने हुए जीवों में स्थानांतरित करते हैं।

क्या आप जानते हैं कि विजातीय (एलियन) जीवों में किसी प्रकार से स्थानांतरित किए हुए डीएनए खंड का क्या भविष्य है? संभवतः यह डीएनए जीव की संतति कोशिकाओं में स्वयं गुणित नहीं हो पाएगा। किंतु, जब यह डीएनए आदाता (ग्राही) के जीनोम में जुड़ जाता है तब यह गुणित होकर परपोषी डीएनए के साथ वंशागत हो जाता है। यह विजातीय डीएनए खंड, गुणसूत्र का अंग हो जाता है जिसमें प्रतिकृति करने की क्षमता होती है। एक गुणसूत्र में एक विशिष्ट डीएनए अनुक्रम होता है जिसे **प्रतिकृतीयन (रेप्लिकेशन) का उत्पत्ति** कहते हैं और जो प्रतिकृतीयन के लिए उत्तरदायी हैं। किसी भी जीव में किसी विजातीय डीएनए खंड के गुणन हेतु इसे गुणसूत्र का अंग होना आवश्यक है जिसमें एक विशिष्ट अनुक्रम मिलता है जिसे 'प्रतिकृति का मूल (औरिजिन ऑफ रेप्लीकेशन)' कहते हैं। इस प्रकार एक विजातीय डीएनए प्रतिकृति के मूल से जुड़ा रहता है, ताकि डीएनए का विजातीय खंड परपोषी जीव में स्वयं प्रतिकृति व गुणित हो सके। इसे **क्लोनिंग** भी कह सकते हैं या किसी टेम्पलेट डीएनए की समान गुणित संरचना का निर्माण कह सकते हैं।

अब एक कृत्रिम पुनर्योगज डीएनए अणु के निर्माण के बारे में अध्ययन करेंगे।

प्रथम पुनर्योगज डीएनए का निर्माण *सालमोनेला टाइफीमूरियम* के सहज प्लाज्मिड (यह गोलाकार गुणसूत्र बाह्य डीएनए है जो स्वतः प्रतिकृति करता है।) में प्रतिजैविक



प्रतिरोधी कूटलेखन जीन के जुड़ने से हो सका था। स्टेनले कोहेन व हरबर्ट बोयर ने 1972 में उपर्युक्त कार्य प्लाज्मिड से डीएनए का टुकड़ा काटकर संपन्न किया जिनमें प्रतिजैविक प्रतिरोध प्रदान करने के लिए जिम्मेदार जीन था। आणविक कैंची कहे जाने वाले 'प्रतिबंधन एंजाइम्स' (रिस्ट्रिक्सन एंजाइम) की खोज से डीएनए को विशिष्ट जगहों पर काटना संभव हो सका। कटे हुए डीएनए का भाग प्लाज्मिड डीएनए से जोड़ा जाता है। यह प्लाज्मिड डीएनए संवाहक (वेक्टर) की तरह कार्य करता है जो इससे जुड़े डीएनए को स्थानांतरित करता है। संभवतः आप जानते हो कि मच्छर, कीट संवाहक के रूप में मलेरिया परजीवी को मनुष्य शरीर में स्थानांतरित करता है। ठीक उसी तरह से प्लाज्मिड को संवाहक के रूप में प्रयोगकर विजातीय डीएनए के खंड को परपोषी जीवों में पहुँचाया जाता है। प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन को संवाहक के साथ जोड़ने का काम एंजाइम डीएनए लाइगेज के द्वारा होता है जो डीएनए अणु के कटे हुए भाग पर कार्य कर उसके किनारों को जोड़ने का काम करता है। इस संयोजन से पात्रे (इन विट्रो) नये गोलाकार स्वतः प्रतिकृति बनाने वाले डीएनए का निर्माण होता है जिसे पुनर्योगज डीएनए कहते हैं। जब यह डीएनए *एशरिकिआ कोलाई* (*ई.कोलाई*) (एक जीवाणु जो सालमोनेल से काफी मिलता-जुलता है) में स्थानांतरित किया जाता है तो यह नए परपोषी के डीएनए पॉलिमरेज एंजाइम का उपयोग कर अनेक प्रतिकृतियाँ बना लेता है। प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन की प्रति का *ई.कोलाई* का गुणन, *ई.कोलाई* में प्रति जैविक प्रतिरोधी जीन की क्लोनिंग कहलाता है।

आप अनुमान लगा सकते हैं कि जीव के आनुवंशिक रूपांतर में मूलभूत तीन चरण हैं—

- (क) वांछित जीन युक्त डीएनए की पहचान
- (ख) चिह्नित डीएनए का परपोषी में स्थानांतरण
- (ग) स्थानांतरित डीएनए को परपोषी में सुरक्षित रखना तथा उसकी संतति में स्थानांतरित करना।

## 11.2 पुनर्योगज डीएनए तकनीक के साधन

अब हम पूर्ववर्णित चर्चा से जान चुके हैं कि आनुवंशिक इंजीनियरिंग या पुनर्योगज डीएनए तकनीक तभी संपादित हो सकती जब हमारे पास तकनीकी साधन जैसे प्रतिबंधन एंजाइम, पॉलिमरेज एंजाइम, लाइगेज, संवाहक व परपोषी जीव हों। अब इनमें से कुछ के बारे में विस्तृत अध्ययन करेंगे।

### 11.2.1 प्रतिबंधन एंजाइम

वर्ष 1963 में दो एंजाइम पृथक किए गए जो *ई.कोलाई* में जीवाणु भोजी (बैक्टीरियोफाज) की वृद्धि को रोक देते हैं। इनमें एक डीएनए से मिथिल समूह को जोड़ता है, जबकि दूसरा डीएनए को काटता है। बाद वाले एंजाइम को **प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लियेज** कहा गया।

प्रथम प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लियेज- हिंड II, जिसका कार्य डीएनए न्यूक्लियोटाइड विशिष्ट क्रम पर निर्भर है। यह पाँच वर्ष बाद पृथक किया और पहचाना गया। ऐसा पाया गया कि हिंड II, डीएनए अणु को उस विशेष बिंदु पर काटते हैं जहाँ पर छह क्षारक युग्मों (बेस पेयर) का एक विशेष अनुक्रम होता है। इस **विशिष्ट क्षारक अनुक्रम** को हिंड II,

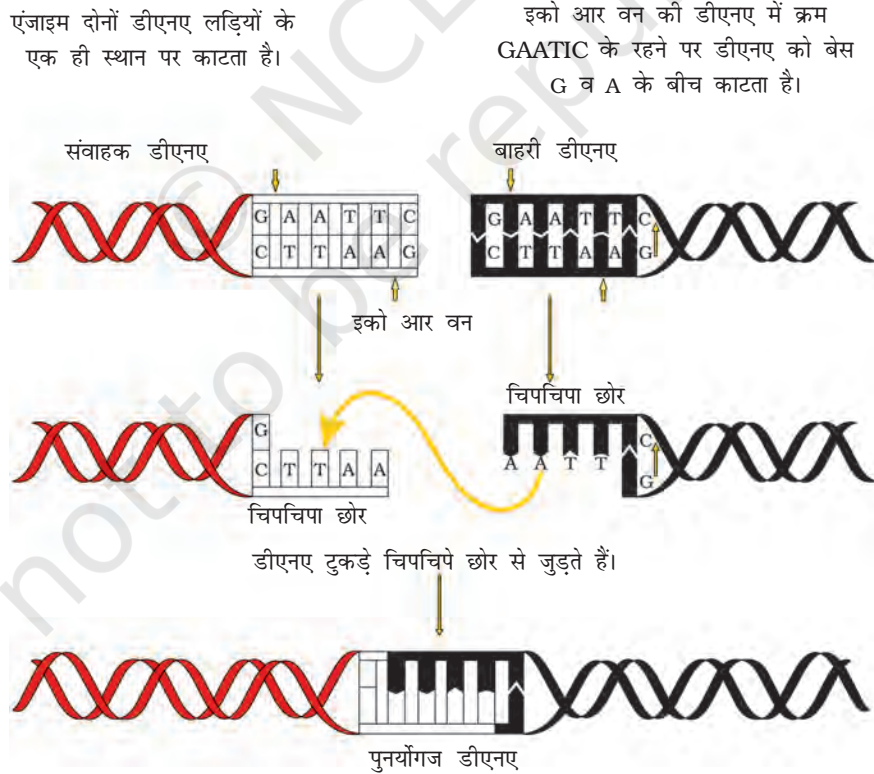


को पहचान अनुक्रम कहते हैं। हिंड II, के अलावा आज 900 से अधिक प्रतिबंधन एंजाइमों के बारे में जानकारी है जो जीवाणुओं के 230 से अधिक प्रभेदों (स्ट्रेन्स) से पृथक किए गए हैं; जिनमें से प्रत्येक विभिन्न पहचान अनुक्रमों को पहचानते हैं।

इन एंजाइमों के नामकरण में परंपरानुसार नाम का पहला शब्द वंश व दूसरा एवं तीसरा शब्द प्राकेंद्रकी कोशिकाओं की जाति से लिया गया है, जिनसे ये पृथक किए गए थे। जैसे-ईको आर I (EcoRI) एशरिशिया कोलाई आर वाई 13, ईको आर I में वर्ण 'आर (R)' प्रभेद के नाम से लिया गया है। नाम के बाद रोमन अंक उस क्रम को दर्शाते हैं जिसको जीवाणु के प्रभेद से एंजाइम पृथक किए गए थे।

प्रतिबंधन एंजाइम, **न्यूक्लियोजेज** कहलाने वाले एंजाइमों के बड़े वर्ग में आते हैं। **एक्सोन्यूक्लियोजेज** दो प्रकार के होते हैं— एवं **एंडोन्यूक्लियोजेज** एक्सोन्यूक्लियोजेज डीएनए के सिरे से न्यूक्लियोटाइड को अलग करते हैं, जबकि एंडोन्यूक्लियोजेज डीएनए को भीतर विशिष्ट स्थलों पर काटते हैं। प्रत्येक प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लियोजेज डीएनए अनुक्रम की लंबाई के 'निरीक्षण' के बाद कार्य करता है। जब यह अपना विशिष्ट पहचान अनुक्रम पा जाता है तब यह डीएनए से जुड़ता है तथा द्विकुंडलिनी की दोनों लड़ियों को शर्करा-फॉस्फेट आधारस्तंभों में विशिष्ट केंद्रों पर काटता है (चित्र 11.1) प्रत्येक प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लियोजेज डीएनए में विशिष्ट **पैलीन्डोमिक न्यूक्लियोटाइड अनुक्रमों** को पहचानता है।

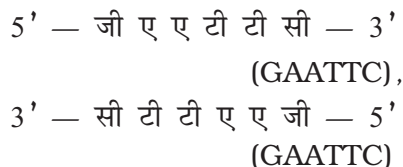
प्रतिबंधन एंजाइम की क्रिया



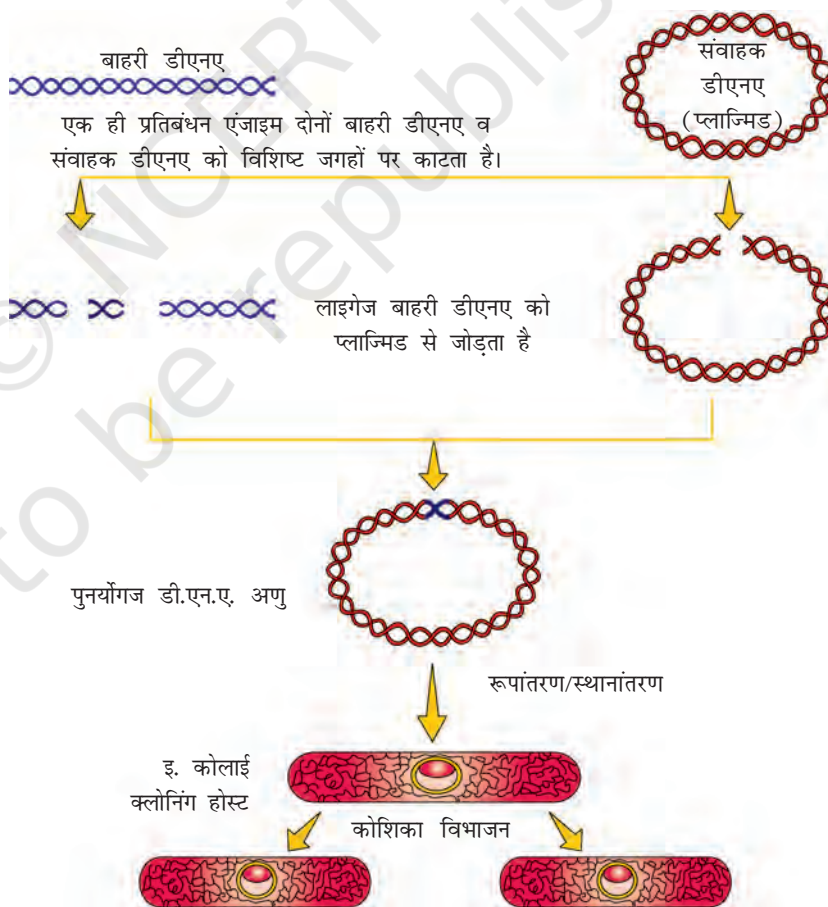
चित्र 11.1 प्रतिबंधन एंजाइम - इको आर वन (EcoRI) की क्रिया द्वारा पुनर्योगज डीएनए के निर्माण के चरण



क्या आप जानते हो कि पैलिंड्रोम क्या हैं? ये वर्णों के समूह हैं जिन्हें आगे व पीछे दोनों तरफ से पढ़ने पर एक ही शब्द बनता है जैसे 'मलयालम'। शब्द पैलिंड्रोम और डीएनए पैलिंड्रोम में अंतर है। डीएनए में पैलिंड्रोम क्षारक युग्मों का एक ऐसा अनुक्रम होता है जो पढ़ने के अभिविन्यास को समान रखने पर दोनों लड़ियों में एक जैसे पढ़ा जाता है। उदाहरणार्थ- निम्न अनुक्रमों को '5 → 3' दिशा में पढ़ने पर दोनों लड़ियों में एक जैसा पढ़ा जाएगा। अगर इसे 3' → 5' दिशा में पढ़ा जाए तब भी यह बात सही बैठती है-



प्रतिबंधन एंजाइम डीएनए लड़ी को पैलिंड्रोम स्थल के केंद्र से थोड़ी दूरी पर लेकिन विपरीत लड़ियों में दो समान क्षारकों के बीच काटते हैं। जिसके फलस्वरूप सिरों पर एक लड़ीय भाग रह जाता है। प्रत्येक लड़ी में प्रलंबी फैलाव मिलते हैं जिन्हें चिपचिपा



चित्र 11.2 पुनर्योगज डीएनए तकनीक का आरेखीय प्रदर्शन



(स्टिकी) सिरा कहते हैं (चित्र 11.1)। इसे यह नाम इसलिए दिया गया है क्योंकि यह अपने पूरक कटे प्रतिरूप के साथ हाइड्रोजन आबंध (बॉन्ड) बनाते हैं। सिरों का यह चिपचिपापन एंजाइम डीएनए लाइगेज के कार्य में सहायता प्रदान करता है।

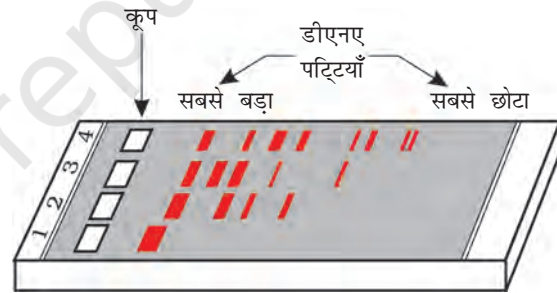
प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लियेज का उपयोग आनुवंशिक इंजीनियरिंग में डीएनए के पुनर्योगज अणु बनाने में किया जाता है जो विभिन्न स्रोतों या जीनोमों से प्राप्त डीएनए से मिलकर बना होता है।

एक ही प्रतिबंधन एंजाइम द्वारा काटने पर प्राप्त होने वाले डीएनए खंडों में समान प्रकार को 'चिपचिपे सिरें' होते हैं, जो डीएनए लाइगेज की सहायता से आपस में (किनारे से किनारे) जुड़ जाते हैं (चित्र 11.2)।

आप पूर्ण रूप से समझ चुके होंगे कि सामान्यतः जब तक संवाहक व स्रोत डीएनए एक ही प्रतिबंधन एंजाइम द्वारा नहीं काटे जाते हैं तब तक पुनर्योगज संवाहक अणु का निर्माण नहीं हो सकता है।

**डीएनए खंड का पृथक्करण एवं विलगन-** प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लियेज द्वारा डीएनए को काटने के परिणामस्वरूप डीएनए का खंडन हो जाता है। इन खंडों को एक तकनीक द्वारा अलग कर सकते हैं जिसे **जेल वैद्युत का संचलन (इलेक्ट्रोफोरेसिस)** कहते हैं। चूँकि डीएनए खंड ऋणात्मक आवेशित (चार्जड) अणु होते हैं, इसलिए इन्हें विद्युत क्षेत्र में माध्यम / आधारी द्वारा ऐनोड की तरफ बलपूर्वक भेजकर अलग कर सकते हैं। आजकल बहुत ही सामान्य रूप से उपयोग किया जाने वाला माध्यम, ऐगारोज है जो समुद्रीय घास (सी वीडस) से निकाला गया एक प्राकृतिक बहुलक (पॉलिमर) है। डीएनए खंडों को ऐगारोज जेल के छलनी प्रभाव द्वारा उनके आकार के अनुसार अलग करते हैं। इस कारण खंड जितने छोटे आकार के होंगे, वे अधिक दूर तक जायेंगे। चित्र 11.3 देखिए और अनुमान लगाइए कि जेल के किस सिरें पर प्रतिदर्श (सैंपल) लादा गया था।

पृथक्कृत डीएनए खंडों को तभी देख सकते हैं जब इस डीएनए को इथीडियम ब्रोमाइड नामक यौगिक से अभिरंजित कर पराबैंगनी विकिरणों से अनावृत्त करते हैं। (आप शुद्ध डीएनए खंडों को दृश्य प्रकाश में बिना अभिरंजित किए नहीं देख सकते।) इथीडियम ब्रोमाइड अभिरंजित (स्टेन्ड) जेल को पराबैंगनी प्रकाश से अनावृत्त करने पर डीएनए की चमकीली नारंगी रंग की पट्टी दिखाई पड़ती है (चित्र 11.3)। डीएनए की पृथक्कृत पट्टियों को ऐगारोज जेल से काट कर निकालते हैं और जेल के टुकड़ों से निष्कर्षित (एक्सट्रेक्ट) कर लेते हैं। इस प्रक्रिया को क्षालन (इलूसन) के कहते हैं। इस तरह से शुद्ध किए गए डीएनए को क्लोनिंग संवाहक से जोड़कर, पुनर्योगज डीएनए निर्माण में उपयोग किया जाता है।



**चित्र 11.3** एक प्रारूपी ऐगारोज जेल इलेक्ट्रोफोरेसिस जो असार संग्रही (पथ 1) व सार संग्रही डीएनए खंडों के समूह का स्थानान्तरण प्रदर्शित करता है (पथ 2 से 4)

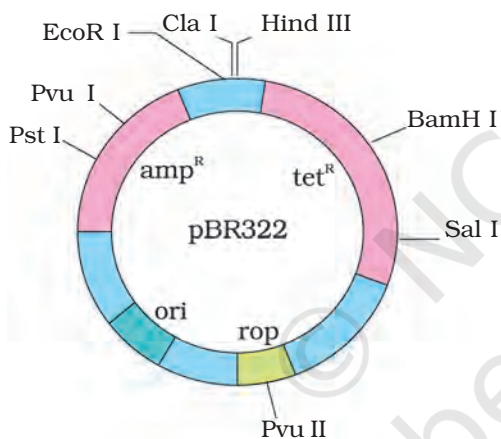


### 11.2.2 क्लोनिंग संवाहक

आप जानते ही हैं कि प्लाज्मिड व जीवाणुभोजी, जीवाणु कोशिकाओं में, बिना गुणसूत्रीय डीएनए नियंत्रण के स्वतंत्र रूप से प्रतिकृति करने की क्षमता रखते हैं। जीवाणुभोजियों की प्रत्येक कोशिका में काफी अधिक संख्या होने से जीवाणु कोशिका में इनके जीनोम की कई प्रतिकृति मिलती है। कुछ प्लाज्मिड की, प्रतिकोशिका केवल एक या दो जबकि दूसरों की 15 से 100 प्रतिकृति मिलती है। इनकी संख्या इससे भी ज्यादा हो सकती है। यदि हम विजातीय डीएनए खंड को जीवाणुभोजी या प्लाज्मिड डीएनए के साथ जोड़ सकें तो इनकी संख्या को भी जीवाणुभोजी या प्लाज्मिड की प्रतिकृति संख्या के समान गुणित कर सकते हैं। वर्तमान समय में उपयोग किये जा रहे संवाहक इस प्रकार से तैयार किए जाते हैं कि इन्हें बाहरी डीएनए से जोड़ने व अपुनर्योगिजों से पुनर्योगिजों के चयन में सहायता मिलती है।

संवाहक में क्लोनिंग करने हेतु निम्न विशेषताओं की आवश्यकता होती है—

(क) **प्रतिकृतियन का उत्पत्ति (ori का प्रारंभ)** — यह वह अनुक्रम है जहाँ से प्रतिकृतियन की शुरुआत होती है और जब कोई डीएनए का कोई खंड इस



**चित्र 11.4** इ. कोलाई क्लोनिंग संवाहक pBR322 में प्रतिबंधन स्थल (Hind III, EcoR I, BamH I, Sal I, Pvu II, Pst I, Cla I), ori व प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन (amp<sup>R</sup> व tet<sup>R</sup>) rop प्लाज्मिड के प्रतिकृति में भाग लेने वाले प्रोटीन का कूट लेखन करता है।

अनुक्रम से जुड़ जाता है तब परपोषी कोशिकाओं के अंदर प्रतिकृति कर सकता है। यह अनुक्रम जोड़े गए डीएनए के प्रतिरूपों की संख्या के नियंत्रण के लिए भी उत्तरदायी है। इसलिए यदि कोई लक्ष्य डीएनए की काफी संख्या प्राप्त करना चाहता है तो इसे ऐसे संवाहक में क्लोन करना चाहिए जिसका मूल (ori) अत्यधिक प्रतिरूप बनाने में सहयोग करता है।

(ख) **वरण योग्य चिह्नक** — 'ori' के साथ संवाहक को वरणयोग्य चिह्नक की आवश्यकता भी होती है, जो अरूपांतरजों (नॉन-ट्रॉन्स्फॉर्मिन्ट्स) की पहचान व उन्हें समाप्त करने में सहायक हो और रूपांतरजों की चयनात्मक वृद्धि को होने दे **रूपांतरण** (ट्रॉन्स्फार्मेशन) एक प्रक्रिया है जिसके द्वारा डीएनए के एक खंड को परपोषी जीवाणु में प्रवेश कराते हैं। (आप आगे के खंडों में इस प्रक्रिया का अध्ययन करेंगे)। सामान्यतया एंपिसिलिन, क्लोरैम्फेनिकॉल, टेट्रोसाइक्लीन या केनामाइसीन जैसे प्रतिजैविक (एंटीबायोटिक) के प्रति प्रतिरोध कोडित करने (एन्कोडिंग) वाले जीन ई.कोलाई के लिए उपयोगी वरणयोग्य चिह्नक माने जाते हैं। सामान्य ई.कोलाई

कोशिकाओं में इनमें से किसी प्रतिजैविक के प्रति, प्रतिरोध नहीं होता।

(ग) **क्लोनिंग स्थल** — विजातीय डीएनए को जोड़ने हेतु सामान्यतः काम में लिए जा रहे प्रतिबंधित एंजाइम के लिए संवाहक में कुछ या एक ही पहचान स्थल होना चाहिए। संवाहक के अंदर एक से अधिक पहचान स्थल होने पर इसके कई खंड बन जाते हैं जो जीन क्लोनिंग को जटिल बना देते हैं। (चित्र 11.4) विजातीय डीएनए का बंधन (लीगेशन) उन दोनों प्रतिजैविक



प्रतिरोधी जीनों में से एक में स्थित प्रतिबंध स्थल पर किया जाता है। उदाहरणार्थ आप विजातीय डीएनए को संवाहक पी बी आर 322 (PBR322) में स्थित टेट्रासाइक्लीन प्रतिरोधी जीन के स्थल से जोड़ सकते हैं। पुनर्योगज प्लाज्मिड का टेट्रासाइक्लीन प्रतिरोध बाहरी डीएनए के निवेशन (इन्सर्शन) से समाप्त हो जाता है लेकिन रूपांतरज को टेट्रासाइक्लीन युक्त माध्यम पर फैलाकर इसका अपुनर्योगज से अभी भी चयन कर सकते हैं। एंपिसिलिन युक्त माध्यम पर वृद्धि करने वाले रूपांतरजों को तब टेट्रासाइक्लीन युक्त माध्यम पर स्थानांतरित कर देते हैं। पुनर्योगज एंपिसिलिन युक्त माध्यम पर तो वर्धन करेगा, लेकिन टेट्रासाइक्लीन युक्त माध्यम पर वर्धन नहीं करेगा। लेकिन अपुनर्योगज दोनों ही प्रतिजैविक युक्त माध्यम पर वर्धन करेगा। इस मामले में एक प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन रूपांतरजों के चुनाव में सहायता करता है जबकि दूसरा प्रतिजैविक प्रतिरोध जीन विजातीय डीएनए के 'निवेशन' से निष्क्रिय हो जाता है और पुनर्योगजों के चुनाव में सहायता करता है।

प्रतिजैविकों के निष्क्रियण के कारण पुनर्योगज का चयन एक जटिल विधि है क्योंकि इसमें दो प्लेटों, जिसमें भिन्न-भिन्न प्रतिजैविक होता है, पर साथ-साथ प्लेटिंग की जरूरत होती है। इस कारण से वैकल्पिक वरणयोग्य चिह्नों का विकास हुआ जो पुनर्योगजों को अपुनर्योगजों से इस आधार पर विभेद करता है वे वर्णोकोत्पादकी (क्रोमोजेनिक) पदार्थ की उपस्थिति में रंग पैदा करने में सक्षम होते हैं। इसमें एक पुनर्योगज डीएनए को बीटा गैलक्टोसाइडेज एंजाइम के कोडिंग अनुक्रम में अन्तर्स्थापित करते हैं, जिससे एन्जाइम संश्लेषित करने वाला जीन निष्क्रिय हो जाता है जिसे **निवेशी निष्क्रियता** (इन्सर्शनल इनएक्टिवेशन) कहते हैं। यदि जीवाणु में प्लाज्मिड में संसर्गिका (इंसर्ट) नहीं होता है तब वर्णोकात्पादकी पदार्थ की उपस्थिति में नीले रंग को निवह (कालोनी) का निर्माण होता है। संसर्गिका की उपस्थिति के परिणामस्वरूप बीटा-गैलक्टोसाइडेस का निवेशी निष्क्रियण हो जाता है जिससे बिना रंग वाली कालोनी बनती है जिसे पुनर्योगज कालोनी के रूप में पहचानते हैं।

- (घ) **पौधों व जंतुओं में जीन क्लोनिंग हेतु संवाहक** — आपको यह जानकर आश्चर्य होगा कि जीनों को पादप और जंतुओं में स्थानांतरित करना हमने जीवाणुओं और विषाणुओं से सीखा जिन्हें यह बात चिरकाल से पता थी — वे जानते थे कि सुकेंद्रकी (यूकैरियोटिक) कोशिकाओं के रूपांतरित करने के लिए जीनों का कैसे उपयोग किया जाए और वे (जीवाणु तथा विषाणु) जो चाहते हैं वैसा करने के लिए जीनो को बाध्य करते हैं। उदाहरणार्थ— एग्रोबैक्टीरियम ट्यूमीफेशिएंस कई द्विबीज पत्री पौधों का रोगजनक पैथोजन है। वह डीएनए के एक खंड जिसे 'टी.-डीएनए' कहते हैं, को स्थानांतरित कर सामान्य पौधों की कोशिकाओं को **अर्बुद (ट्यूमर)** में रूपांतरित करता है और ये अर्बुद कोशिकाएँ रोगजनक के लिए जरूरी रसायनों का उत्पादन करते हैं। ठीक इसी तरह से जंतु कोशिकाओं में पश्चविषाणु (रीट्रोवायरस) सामान्य कोशिकाओं को **कैंसर** कोशिकाओं में रूपांतरित कर देते हैं। रोगजनकों द्वारा



अपने सुकेंद्रकी परपोषी में जीन स्थानांतरण की कला को अच्छी तरह से समझ कर रोग जनकों की इस विधि का उपयोग कर, अच्छे संवाहक के रूप में प्रयोग कर, मानव के लिए उपयोगी जीन का स्थानांतरण कर सकते हैं। एग्रोवैक्टीरीयम ट्यूमीफेशियंस का टी आई (Ti) प्लाज्मिड क्लोनिंग संवाहक के रूप में अब रूपांतरित कर दिया गया है जो पौधों के लिए रोग जनक नहीं है, लेकिन इसका उपयोग अपनी अभिरूचि के जीन को अनेक पौधों में स्थानांतरित करने में किया जाता है। ठीक इसी तरह से पशुचविषाणु को अहानिकारक बनाकर जंतु कोशिकाओं में वांछित जीन को रूपांतरित करने में उपयोग किया जाता है। इस तरह से जब एक जीन या डीएनए के खंड को उचित संवाहक से जोड़ दिया जाता है तब इसे जीवाणु, पौधों व जंतु परपोषी में स्थानांतरित किया जाता है (जहाँ यह गुणित होता रहता है)।

### 11.2.3 सक्षम परपोषी आतिथेय (पुनर्योगज डीएनए के साथ रूपांतरण हेतु)

चूँकि डीएनए जलरागी (हाइड्रोफिलिक) अणु है, इसलिए यह कोशिका झिल्ली से होकर नहीं गुजर सकता है। क्यों? जीवाणु को प्लाज्मिड लेने के लिए बाध्य करने से पूर्व यह आवश्यक है कि जीवाणु कोशिका को डीएनए लेते हेतु 'सक्षम' बनाया जाए। ऐसा करने के लिए पहले द्विसंयोजन धनायन (डाइबैलेंट कैटायन) जैसे कि कैल्सियम की विशिष्ट सांद्रता के साथ संसाधित किया जाता है। इससे डीएनए को जीवाणु की कोशिका भित्ति में स्थित छिद्रों से प्रवेश करने में काफी सहायता मिलती है। ऐसी कोशिकाओं को पुनर्योगज डीएनए के साथ पहले बर्फ पर रखा जाता है तब पुनर्योगज डीएनए को उन कोशिकाओं में बलपूर्वक प्रवेश कराया जाता है। इसके बाद उन्हें थोड़े समय के लिए 42 डिग्री सेल्सियस (तापप्रघात) पर रखा जाता है और पुनः इसे वापस बर्फ पर रखा जाता है। ऐसा करने से पुनर्योगज डीएनए जीवाणु में प्रवेश कर जाता है।

परपोषी कोशिकाओं में विजातीय डीएनए को प्रवेश कराने हेतु केवल यही विधि नहीं है। **सूक्ष्म अंतःक्षेपण** (माइक्रोजेक्शन) विधि में पुनर्योगज डीएनए को सीधे जंतु कोशिका के केंद्रक के भीतर अंतःक्षेपित किया जाता है। दूसरी विधि जो पौधों के लिए उपयोगी है, कोशिकाओं पर डीएनए से विलेपित, स्वर्ण या टंगस्टन के उच्च वेग सूक्ष्म कणों से बमबारी करते हैं जिसे **बायोलिस्टिक** या **जीन गन** कहते हैं। अंतिम विधि जिसमें 'अहानिकारक रोगजनक' संवाहक का उपयोग किया जाता है। इन संवाहकों को जब कोशिकाओं को संक्रमित करने दिया जाता है तब ये पुनर्योगज डीएनए को परपोषी में स्थानांतरित कर देते हैं।

आप पुनर्योगज डीएनए निर्माण के तरीकों के बारे में सीख चुके होंगे। अब उन प्रक्रमों का वर्णन करेंगे जो पुनर्योगज डीएनए प्रौद्योगिकी को आगे बढ़ाने में सुगम बनाते हैं।

## 11.3 पुनर्योगज डीएनए प्रौद्योगिकी के प्रक्रम

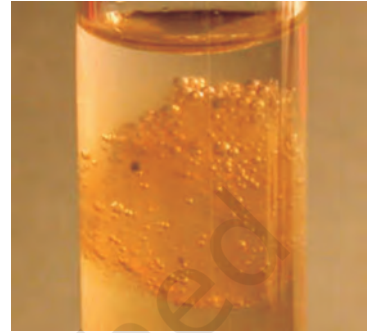
पुनर्योगज डीएनए प्रौद्योगिकी (टेक्नोलॉजी) चरण विशिष्ट अनुक्रम में सम्मिलित हैं जैसे डीएनए का विलगन (पृथक्करण), डीएनए का खंडन, डीएनए खंड का संवाहक से



बंधन, पुनर्योगज डीएनए का परपोषी में स्थानांतरण, परपोषी कोशिकाओं का माध्यम में व्यापक स्तर पर संवर्धन व वंछित उत्पाद का निष्कर्षण। अब इन सभी चरणों की थोड़ा विस्तृत रूप में अध्ययन करेंगे।

### 11.3.1 आनुवंशिक पदार्थ ( डीएनए ) का पृथक्करण

याद रखें कि बिना अपवाद के सभी जीव का आनुवंशिक पदार्थ न्यूक्लिक अम्ल है। अधिकांश जीवों में यह डिऑक्सीराबोन्यूक्लिक अम्ल या डीएनए है। डीएनए को प्रतिबंधन एंजाइम द्वारा काटने के लिए यह आवश्यक है कि यह दूसरे वृहद्-अणुओं से मुक्त, शुद्ध रूप में होना चाहिए। डीएनए झिल्लियों से घिरा रहता है इसलिए कोशिका को तोड़कर खोलना पड़ेगा ताकि डीएनए दूसरे वृहद् अणुओं जैसे आरएनए, प्रोटीन, बहुशर्करा, लिपिड के साथ मोचित (रिलीज) हो सके। यह तभी संभव है जब जीवाणु कोशिका/पादप या जंतु ऊतक, **लाइसोजाइम** (जीवाणु), **सेलुलेज** (पादपकोशिका), **काइटिनेज** (कवक) जैसे एंजाइम द्वारा संसाधित किए जाते हैं। आप जानते हो जीन डीएनए के लंबे अणुओं पर स्थित होते हैं व हिस्टोन जैसे प्रोटीनों के साथ गुँथे रहते हैं। आरएनए को राइबोन्यूक्लियेज से उपचारित कर अलग कर सकते हैं जबकि प्रोटीन को प्रोटीएज से उपचारित कराने के बाद अलग कर सकते हैं। दूसरे अणुओं को उचित उपचार द्वारा अलग कर सकते हैं। अंततोगत्वा द्रुतशीतित (चिल्ड) एथेनॉल मिलाने से शोधित डीएनए अवक्षेपित (प्रेसिपिटेट) हो जाता है। इसे निलंबन में महीन धागों के समूह के रूप में देख सकते हैं (चित्र 11.5)।



चित्र 11.5 पृथक् किए गए डीएनए को स्पूलिंग द्वारा अलग करना

### 11.3.2 डीएनए को विशिष्ट स्थलों पर काटना

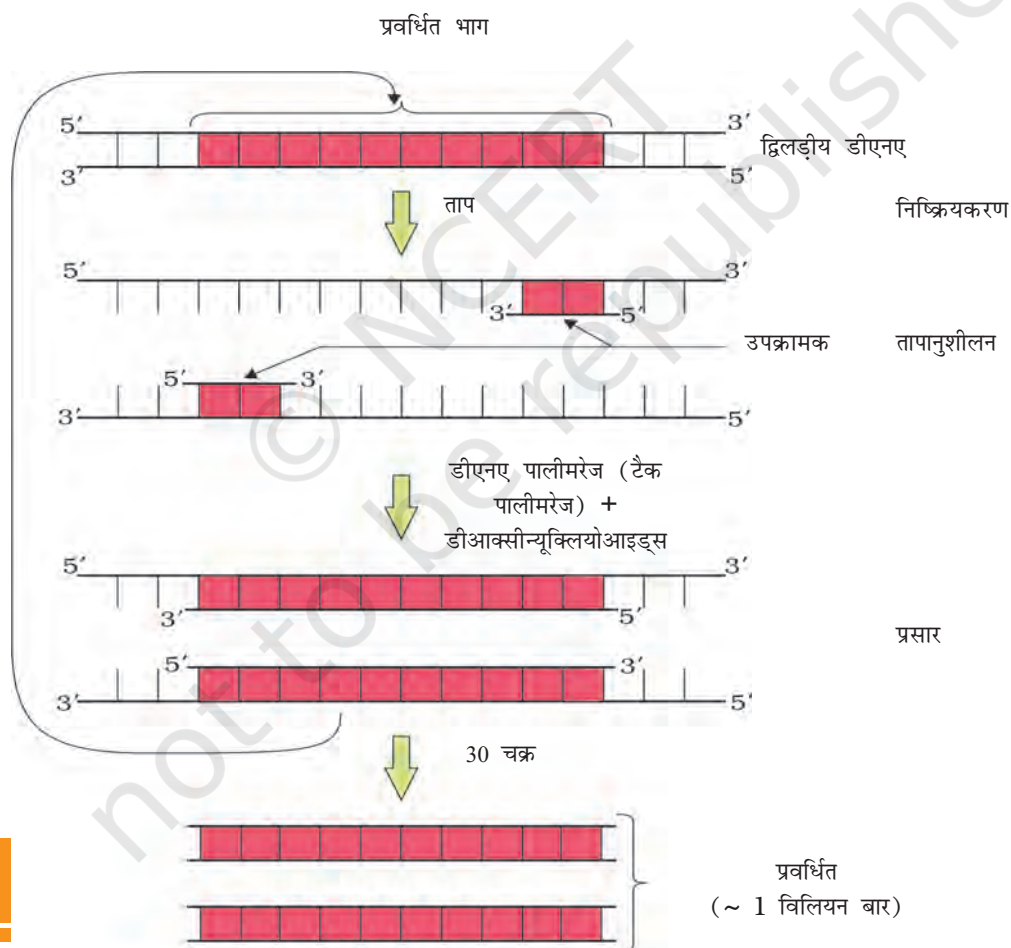
शोधित डीएनए अणुओं को प्रतिबंधन एंजाइम के साथ उनकी इष्टतम (ऑप्टिमम) परिस्थितियों में रखने पर प्रतिबंधन एंजाइम द्वारा पाचन संपन्न होता है। ऐगारोज जेल वैद्युत का संचलन प्रतिबंधन एंजाइम पाचन को नियंत्रित करने के काम में आता है। डीएनए एक ऋणात्मक आवेशित अणु है। इस कारण से यह धनात्मक इलेक्ट्रोड (एनोड) की ओर गति करता है (चित्र 11.3)। यह प्रक्रम संवाहक डीएनए के साथ भी दोहराया जाता है।

डीएनए के जुड़ने में कई प्रक्रम शामिल हैं। स्रोत डीएनए व संवाहक डीएनए को भी विशिष्ट प्रतिबंधन एंजाइम द्वारा काटे जाने के बाद, स्रोत डीएनए से कटा हुआ 'उपयोगी जीन' तथा उसकी खाली जगह के साथ संवाहक आपस में लाइगेज द्वारा जोड़ दिए जाते हैं। परिणामस्वरूप एक पुनर्योगज डीएनए का निर्माण होता है।

### 11.3.3 पीसीआर का उपयोग करते हुए लाभकारी जीन का प्रवर्धन

पीसीआर का अर्थ **पोलीमरेजचेन रिऐक्शन (पॉलिमरेज शृंखला अभिक्रिया)** है। इस अभिक्रिया में उपक्रमकों (प्राइमर्स- छोटे रासायनिक संश्लेषित अल्पन्यूक्लियोटाइड जो

डीएनए क्षेत्र के पूरक होते हैं) के दो समुच्चयों (सेट्स) व डीएनए पॉलिमरेज एंजाइम का उपयोग करते हुए पात्रे (इनविट्रो) विधि द्वारा उपयोगी जीन के कई प्रतिकृतियों का संश्लेषण होता है। यह एंजाइम जिनोमिक डीएनए को टेंपलेट के रूप में काम में लेकर; अभिक्रिया से मिलने वाले न्यूक्लियोटाइडों का उपयोग करते हुए उपक्रामकों को विस्तृत कर देता है। यदि डीएनए प्रतिकृतयेन प्रक्रम कई बार दोहराया जाता है तब डीएनए खंड को लगभग एक अरब गुना (एक बिलियन) प्रवर्धित किया जा सकता है अर्थात् एक अरब प्रतिरूपों का निर्माण होता है। यह सतत् प्रवर्धन तापस्थायी (थर्मोस्टेबल) डीएनए पॉलिमरेज (जीवाणु, *थर्मस एक्वेटिकस* से पृथक किया गया है) द्वारा किया जाता है। उच्च तापमान द्वारा प्रेरित द्विलिडीय डीएनए के विकृतीकरण के समय भी यह हमेशा सक्रिय बना रहता है। यदि आवश्यकता पड़े, तो अब प्रवर्धित खंड को संवाहक के साथ बांध कर आगे क्लोनिंग में प्रयोग कर सकते हैं। (चित्र 11.6)



चित्र 11.6 पालिमरेज श्रृंखला अभिक्रिया (पीसीआर) का प्रदर्शन — प्रत्येक चक्र में तीन चरण हैं — (अ) निष्क्रियकरण (ब) उपक्रामक तापानुशीलन व (स) उपक्रामकों का विस्तार





### 11.3.4 पुनर्योगज डीएनए का परपोषी कोशिका/जीव में निवेशन

बंधे हुए डीएनए को आदाता कोशिका में प्रवेश कराने की अनेक विधियाँ हैं। यह कार्य जब आदाता कोशिका अपने चारों तरफ स्थित डीएनए को धारण करने में सक्षम हो जाए तब किया जा सकता है। यदि पुनर्योगज डीएनए को जिसमें प्रतिजैविक (उदाहरण-एंपिसिलिन) के प्रति प्रतिरोधी जीन स्थित होता है, ई कोलाई कोशिकाओं में स्थानांतरित किया जाए तो परपोषी कोशिकाएँ प्रतिरोधी कोशिकाओं में रूपांतरित हो जाती हैं। यदि रूपांतरित कोशिकाओं को युक्त ऐगार प्लेट पर फैलाया जाता है तो केवल कोशिकाएँ ही विकसित हो पाती हैं जबकि अरूपांतरित आदाता कोशिकाओं की मृत्यु हो जाती है। प्रतिरोधी जीन के कारण कोई भी एंपिसिलिन की उपस्थिति में रूपांतरित कोशिका का चयन कर सकता है। इस मामले में प्रतिरोधी जीन को **वरणयोग्य चिह्नक** कहते हैं।

### 11.3.5 बाहरी जीन उत्पाद को प्राप्त करना

जब आप विजातीय डीएनए खंड का क्लोनिंग संवाहक में निवेश कराकर किसी भी जीवाणु, पौधा या जंतु कोशिका में स्थानांतरित करते हैं तो विजातीय डीएनए इनमें गुणित होने लगता है। लगभग सभी पुनर्योगज प्रौद्योगिकियों का अंतिम उद्देश्य वांछित प्रोटीन का उत्पादन करना ही होता है। इसके लिए पुनर्योगज डीएनए के अभिव्यक्त होने की आवश्यकता होती है। बाहरी जीन उपयुक्त परिस्थितियों में अभिव्यक्त होते हैं। बाहरी जीन की परपोषी कोशिकाओं में अभिव्यक्त को समझने के लिए कई तकनीकी बातों को विस्तारपूर्वक जानना जरूरी है।

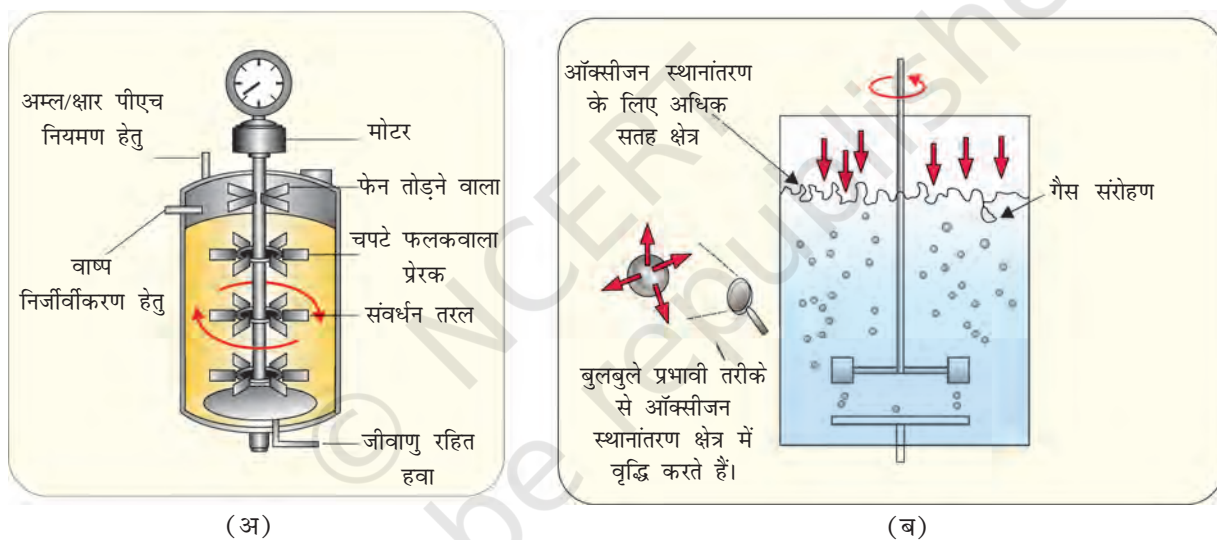
वांछित जीन को क्लोन करने, लक्ष्य प्रोटीन की अभिव्यक्ति को प्रेरित करने वाली परिस्थितियों को अनुकूलतम बनाने के बाद कोई भी इनका व्यापक स्तर पर उत्पादन करने के बारे में सोच सकता है। *क्या आप कोई कारण बता सकते हैं कि बड़े पैमाने पर उत्पादन क्यों आवश्यक है?* यदि कोई प्रोटीन कूटलेखन (इनकोडिंग) जीन किसी विषमजात (हेटेरोलोगस) परपोषी में अभिव्यक्त होता है तो इसे **'पुनर्योगज प्रोटीन'** कहते हैं। लाभकारी क्लोनित जीनों को आश्रय देने वाली कोशिकाओं का छोटे पैमाने पर प्रयोगशाला में वर्धन किया जा सकता है। संवर्धन को वांछित प्रोटीन के निष्कर्षण में प्रयोग कर सकते हैं व पृथक्करण की विभिन्न तकनीकों का प्रयोग करते हुए इस प्रोटीन का शोधन करते हैं। कोशिकाओं को सतत संवर्धन तंत्र में गुणित कर सकते हैं, जिसमें उपयोग किए गए माध्यम को एक तरफ से निकालकर दूसरी तरफ से ताजा माध्यम को भरते हैं ताकि कोशिकाएँ अपने क्रियात्मक रूप से सर्वाधिक सक्रिय लॉग (एक्स्पोनोन्शियल) प्रावस्था में बनी रहें। यह संवर्धन विधि अधिक जैवमात्रा के उत्पादन से वांछित प्रोटीन के अधिक उत्पादन हेतु उपयोगी है।

कम आयतन संवर्धन से उत्पाद की पर्याप्त मात्रा का उत्पादन नहीं हो सकता। इन उत्पादों के अधिक मात्रा में उत्पादन हेतु **बायोरिक्टर** के विकास की आवश्यकता थी, जहाँ संवर्धन का अधिक आयतन (100-1000लीटर) संशोधित किया जा सके। इस प्रकार बायोरिएक्टर एक बर्तन के समान है, जिसमें सूक्ष्मजीवों, पौधों, जंतुओं व मानव कोशिकाओं का उपयोग करते हुए कच्चे माल को जैव रूप से विशिष्ट उत्पादों व्यष्टि



एंजाइम आदि, में परिवर्तित किया जाता है। बायोरिएक्टर, वांछित उत्पाद पाने के लिए, अनुकूलतम परिस्थितियाँ उपलब्ध करता है। वृद्धि के लिए ये अनुकूलतम परिस्थितियाँ हैं- तापमान, pH, क्रियाधार, लवण, विटामिन, ऑक्सीजन। जो बायोरिएक्टर सामान्यतया सर्वाधिक उपयोग में लाया जाता है वह विलोडन (स्टिरिंग) प्रकार का है जिसे चित्र 11.7 में दर्शाया गया है।

विलोडित हौज रिएक्टर सामान्यतया बेलनाकार होते हैं या जिनके आधार घुमावदार होने से रिएक्टर के अंदर अंतर्वस्तु के मिश्रण में सहायता मिलती है। विलोडक बायोरिएक्टर में ऑक्सीजन उपलब्धता व उसके मिश्रण का काम करते हैं। विकल्पतः हवा बुलबुले के रूप में बायोरिएक्टर में भेजी जा सकती है। यदि आप चित्र को ध्यान से देखें तो पायेंगे कि रिएक्टर में एक प्रक्षोभक तंत्र (एजिटेटर सिस्टम), ऑक्सीजन प्रदाय तंत्र, झाग नियंत्रण तंत्र, तापक्रम नियंत्रण तंत्र, पीएच नियंत्रण तंत्र व प्रतिचयन प्रद्वार लगा होता है जिससे संवर्धन की थोड़ी मात्रा समय-समय पर निकाली जा सकती है।



चित्र 11.7 (अ) साधारण विलोडन हौज बायोरिएक्टर (ब) दंड विलोडक हौज बायोरिएक्टर जिसके द्वारा जीवाणु विहीन हवा के बुलबुलों का प्रवेश

### 11.3.6 अनुप्रवाह संसाधन

जैव संश्लेषित अवस्था के पूर्ण होने के बाद परिष्कृत तैयार होने व विपणन के लिए भेजे जाने से पहले कई प्रक्रमों से होकर गुजरता है। इन प्रक्रमों में पृथक्करण व शोधन सम्मिलित है और इसे सामूहिक रूप से अनुप्रवाह संसाधन कहते हैं। उत्पाद को उचित परिरक्षक के साथ संरूपित करते हैं। औषधि के मामले में ऐसे संरूपण (फार्मुलेशन) को चिकित्सीय परीक्षण से गुजारते हैं। प्रत्येक उत्पाद के लिए सुनिश्चित गुणवत्ता नियंत्रण परीक्षण की भी आवश्यकता होती है। अनुप्रवाह संसाधन व गुणवत्ता नियंत्रण परीक्षण प्रत्येक उत्पाद के लिए भिन्न-भिन्न होता है।



## सारांश

जैव प्रौद्योगिकी जीवधारियों, कोशिकाओं व एंजाइमों का प्रयोग करते हुए उत्पादों व प्रक्रमों का व्यापक स्तर पर उत्पादन व विपणन करने से संबंधित है। आधुनिक जैव प्रौद्योगिकी में आनुवंशिकतः रूपांतरित जीवों का उपयोग तभी संभव हो पाया जब मनुष्य ने डीएनए के रसायन को परिवर्तित व पुनर्योगज डीएनए का निर्माण करना सीख लिया। इस प्रमुख प्रक्रम को पुनर्योगज डीएनए प्रौद्योगिकी या आनुवंशिक इंजीनियरिंग कहते हैं। इस प्रक्रम में प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लियेज, डीएनए लाइगेज, समुचित प्लाज्मिड या विषाणु संवाहक को डीएनए के पृथक करने व परपोषी जीवों में विजातीय डीएनए का स्थानांतरण, बाहरी जीन की अभिव्यक्ति, जीन उत्पाद अर्थात् सक्रिय प्रोटीन का शोधन और अंत में विपणन के लिए उपयुक्त संरूपण बनाना शामिल है। व्यापक स्तर पर उत्पादन में बायोरिएक्टर का उपयोग होता है।

## अभ्यास

1. क्या आप दस पुनर्योगज प्रोटीन के बारे में बता सकते हैं जो चिकित्सीय व्यवहार के काम में लाए जाते हैं? पता लगाइये कि वे चिकित्सीय औषधि के रूप में कहाँ प्रयोग किए जाते हैं। (इंटरनेट की सहायता लें)।
2. एक सचित्र (चार्ट) (आरेखित निरूपण के साथ) बनाइए जो प्रतिबंधन एंजाइम को, (जिस क्रियाधार डीएनए पर यह कार्य करता है उसे), उन स्थलों को जहाँ यह डीएनए को काटता है व इनसे उत्पन्न उत्पाद को दर्शाता है।
3. कक्षा ग्यारहवीं में जो आप पढ़ चुके हैं उसके आधार पर क्या आप बता सकते हैं कि आणविक आकार के आधार पर एंजाइम बड़े हैं या डीएनए। आप इसके बारे में कैसे पता लगायेंगे?
4. मानव की एक कोशिका में डीएनए की मोलर सांद्रता क्या होगी? अपने अध्यापक से परामर्श लीजिए।
5. क्या सुकेंद्रकी कोशिकाओं में प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लियेज मिलते हैं? अपने उत्तर सही सिद्ध कीजिए।
6. अच्छी हवा व मिश्रण विशेषता के अतिरिक्त की तुलना में कौन सी अन्य कंपन फ्लास्क सुविधाएँ हैं?
7. शिक्षक से परामर्श कर पाँच पैलिंड्रोमिक अनुप्रयास करना होगा कि क्षारक-युग्म नियमों का पालन करते हुए पैलिंड्रोमिक अनुक्रम बनाने के उदाहरण का पता लगाइए।
8. अर्धसूत्री विभाजन को ध्यान में रखते हुए क्या बता सकते हैं कि पुनर्योगज डीएनए किस अवस्था में बनते हैं?



9. क्या आप बता सकते हैं कि प्रतिवेदक (रिपोर्टर) एंजाइम को वरणयोग्य चिह्न की उपस्थिति में बाहरी डीएनए को परपोषी कोशिकाओं में स्थानांतरण के लिए मॉनिटर करने के लिए किस प्रकार उपयोग में लाया जा सकता है?
10. निम्नलिखितों का संक्षिप्त वर्णन कीजिए-
- (क) प्रतिकृतीयन का उद्भव
  - (ख) बायोरिएक्टर
  - (ग) अनुप्रवाह संसाधन
11. संक्षेप में बताइए
- (क) पीसीआर
  - (ख) प्रतिबंधन एंजाइम और डीएनए
  - (ग) काइटिनेज
12. अपने अध्यापक से चर्चा करके पता लगाइए कि निम्नलिखित के बीच कैसे भेद करेंगे-
- (क) प्लाज्मिड डीएनए और गुणसूत्रीय डीएनए
  - (ख) आरएनए और डीएनए
  - (ग) एक्सोन्यूक्लियोज और एंडोन्यूक्लियोज

## अध्याय 12



# जैव प्रौद्योगिकी एवं उसके उपयोग

- 12.1 कृषि में जैव प्रौद्योगिकी के उपयोग
- 12.2 चिकित्सा में जैव प्रौद्योगिकी के उपयोग
- 12.3 पारजीवी जंतु (ट्रांसजेनिक एनीमल)
- 12.4 नैतिक प्रश्न

तुम पिछले अध्याय में जैव प्रौद्योगिकी जिसके बारे में पढ़ चुके हो, उसमें मुख्यतया आनुवंशिक रूप से रूपांतरित सूक्ष्मजीवों, कवक, पौधों व जंतुओं का उपयोग करते हुए जैव भैषजिक व जैविक पदार्थों का औद्योगिक स्तर पर उत्पादन किया जाता है। जैव प्रौद्योगिकी का उपयोग चिकित्सा शास्त्र, निदानसूचक, कृषि में आनुवंशिकतः रूपांतरित फसलें, संसाधित खाद्य, जैव सुधार, अपशिष्ट प्रतिपादन व ऊर्जा उत्पादन में हो रहा है। जैव प्रौद्योगिकी के तीन विवेचनात्मक अनुसंधान क्षेत्र हैं —

- (क) उन्नत जीवों जैसे-सूक्ष्मजीवों या शुद्ध एंजाइम के रूप में सर्वोत्तम उत्प्रेरक का निर्माण करना।
- (ख) उत्प्रेरक के कार्य हेतु अभियांत्रिकी द्वारा सर्वोत्तम परिस्थितियों का निर्माण करना, तथा
- (ग) अनुप्रवाह प्रक्रमण तकनीक का प्रोटीन/कार्बनिक यौगिक के शुद्धीकरण में उपयोग करना।

अब हम पता लगाएँगे कि मनुष्य जैव प्रौद्योगिकी का उपयोग विशेषरूप से स्वास्थ्य व खाद्य उत्पादन के क्षेत्र में जीवनस्तर के सुधार में किस प्रकार से लगा हुआ है।

### 12.1 कृषि में जैव प्रौद्योगिकी का उपयोग

खाद्य उत्पादन में वृद्धि हेतु हम तीन संभावनाओं के बारे में सोच सकते हैं— (क) कृषि रसायन आधारित कृषि (ख) कार्बनिक कृषि और



(ग) आनुवंशिकतः निर्मित फसल आधारित कृषि। हरित क्रांति द्वारा खाद्य आपूर्ति में तिगुनी वृद्धि में सफलता मिलने के बावजूद मनुष्य की बढ़ती जनसंख्या का पेट भर पाना संभव नहीं है। उत्पादन में वृद्धि आंशिक रूप से उन्नत किस्मों की फसलों के उपयोग के कारण है जबकि इस वृद्धि में मुख्यतया उत्तम प्रबंधकीय व्यवस्था और कृषि रसायनों (खादों तथा पीडकनाशकों) का प्रयोग एक कारण है। हालाँकि विकासशील देशों के किसानों के लिए कृषि रसायन काफी महंगे पड़ते हैं व परंपरागत प्रजनन के द्वारा निर्मित किस्मों से उत्पादन में वृद्धि संभव नहीं है। क्या ऐसा कोई वैकल्पिक रास्ता है जिसमें आनुवंशिक जानकारी का उपयोग करते हुए किसान अपने खेतों से सर्वाधिक उत्पादन ले सकेंगे? क्या ऐसा कोई तरीका है जिसके द्वारा खादों एवं रसायनों का न्यूनतम उपयोग कर उसके द्वारा पर्यावरण पर पड़ने वाले हानिकारक प्रभावों को घटा सकते हैं? आनुवंशिकतः रूपांतरित फसलों का उपयोग ही इस समस्या का हल है।

ऐसे पौधे, जीवाणु, कवक व जंतु जिनके जींस हस्तकौशल द्वारा परिवर्तित किए जा चुके हैं। **आनुवंशिकतः रूपांतरित जीव** (जेनेटिकली मोडीफाइड आर्गनाइजेशन) कहलाते हैं। जीएमओ का व्यवहार स्थानांतरित जीन की प्रकृति, परपोषी पौधों, जंतुओं या जीवाणुओं की प्रकृति व खाद्य जाल पर निर्भर करता है। जीएम पौधों का उपयोग कई प्रकार से लाभदायक है। आनुवंशिक रूपांतरण द्वारा—

- (क) अजैव प्रतिबलों (ठंडा, सूखा, लवण, ताप) के प्रति अधिक सहिष्णु फसलों का निर्माण
- (ख) रासायनिक पीडकनाशकों पर कम निर्भरता करना (पीडकनाशी-प्रतिरोधी फसल)
- (ग) कटाई पश्चात् होने वाले (अन्नादि) नुकसानों को कम करने में सहायक
- (घ) पौधों द्वारा खनिज उपयोग क्षमता में वृद्धि (यह शीघ्र मृदा उर्वरता समापन को रोकता है)
- (ङ) खाद्य पदार्थों के पोषणिक स्तर में वृद्धि; उदाहरणार्थ—विटामिन ए समृद्ध धान (गोल्डन राइस)

उपरोक्त उपयोगों के साथ - साथ जी एम का उपयोग तदनुकूल पौधों के निर्माण में सहायक है, जिनसे वैकल्पिक संसाधनों के रूप में उद्योगों में वसा, ईंधन व भेषजीय पदार्थों की आपूर्ति की जाती है।

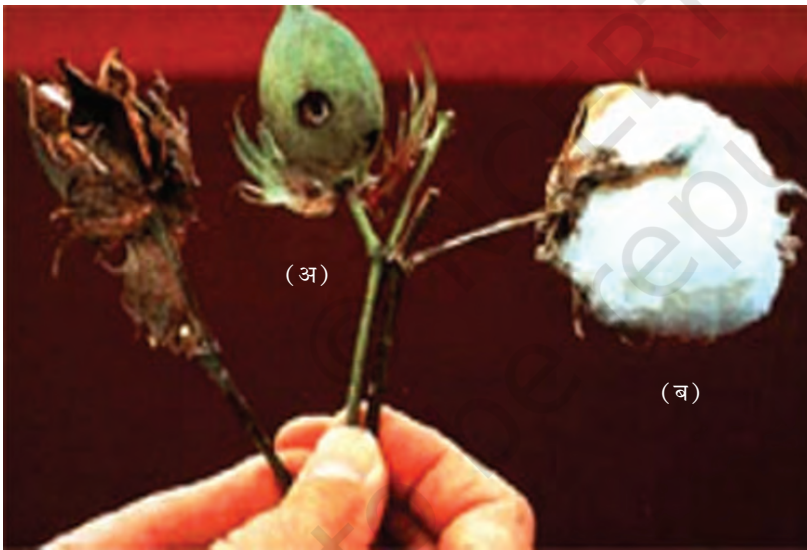
कृषि में जैव प्रौद्योगिकी के उपयोगों में जिनके बारे में तुम विस्तृत रूप से अध्ययन करोगे; वह पीडक प्रतिरोधी फसलों का निर्माण है जो पीडकनाशकों की मात्रा को कम प्रयोग में लाती है। बीटी (**Bt**) एक प्रकार का जीवविष है जो एक जीवाणु जिसे *बैसीलस थुरीनजिएंसीस* (संक्षेप में **बीटी**) कहते हैं, से निर्मित होता है। बीटी जीवविष जीन जीवाणु से क्लोनिकृत होकर पौधों में अभिव्यक्त होकर कीटों (पीडकों) के प्रति प्रतिरोधकता पैदा करता है जिससे कीटनाशकों के उपयोग की आवश्यकता नहीं रह गई है। इस तरह से जैव-पीडकनाशकों का निर्माण होता है। उदाहरणार्थ— बीटी कपास, बीटी मक्का, धान, टमाटर, आलू व सोयाबीन आदि।

**बीटी कपास**— *बैसीलस थुरीनजिएंसीस* की कुछ नस्लें ऐसी प्रोटीन का निर्माण करती हैं जो विशिष्ट कीटों जैसे— लीथीडोप्टेशन (तंबाकू की कलिका कीड़ा, सैनिक कीड़ा), कोलियोप्टेरान (भृंग) व डीप्टेरान (मक्खी, मच्छर) को मारने में सहायक है।



बी. थूरीनजिएंसीस अपनी वृद्धि के विशेष अवस्था में कुछ प्रोटीन रवा का निर्माण करती है। इन रवों में विषाक्त **कीटनाशक प्रोटीन** होता है। यह जीवविष बैसीलस को क्यों नहीं मारता है? वास्तव में बीटी जीव-विष प्रोटीन, प्राक्जीव विष निष्क्रिय रूप में होता है, ज्योंहि कीट इस निष्क्रिय जीव विष को खाता है, इसके रवे आँत में क्षारीय पी एच के कारण घुलनशील होकर सक्रिय रूप में परिवर्तन हो जाते हैं। सक्रिय जीव विष मध्य आँत के उपकलीय कोशिकाओं की सतह से बँधकर उसमें छिद्रों का निर्माण करते हैं, जिस कारण से कोशिकाएँ फूलकर फट जाती हैं और परिणामस्वरूप कीट की मृत्यु हो जाती है।

विशिष्ट बीटी जीव विष जींस *बैसीलस थूरीनजिएंसीस* से पृथक कर कई फसलों जैसे कपास में समाविष्ट किया जा चुका है। जींस का चुनाव फसल व निर्धारित कीट पर निर्भर करता है, जबकि सर्वाधिक बीटी जीव विष कीट-समूह विशिष्टता पर निर्भर करते हैं। जीव विष जिस जीन द्वारा कूटबद्ध होते हैं उसे *क्राई* कहते हैं। ये कई प्रकार के होते हैं। उदाहरणस्वरूप — जो प्रोटींस जीन *क्राई 1 एसी* व *क्राई 2 एबी* द्वारा कूटबद्ध होते हैं वे कपास के मुकुल कृमि को नियंत्रित करते हैं (चित्र 12.1) जबकि *क्राई 1 एबी* मक्का छेदक को नियंत्रित करता है।



चित्र 12.1 कपास (अ) गोलक शलभ कृमि द्वारा नष्ट व (ब) पूर्णतया परिपक्व कपास गोलक

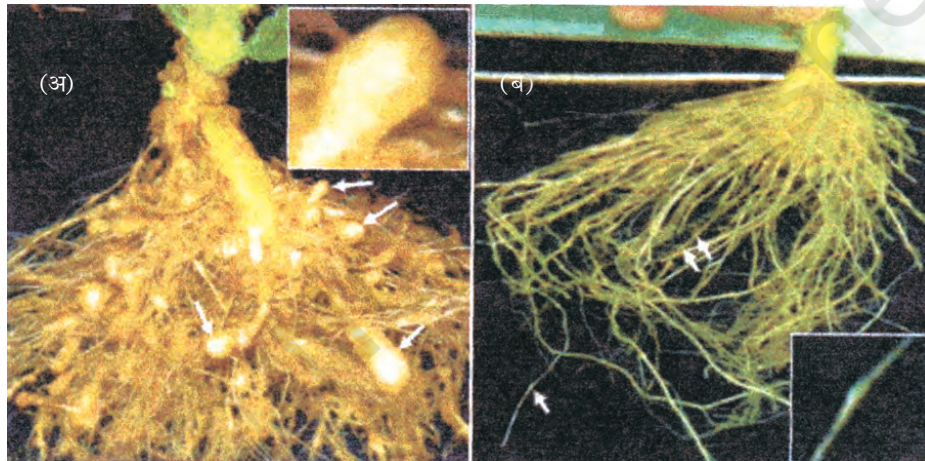
**पीड़क प्रतिरोधी पौधा**— विभिन्न सूत्रकृमि, मानव सहित जंतुओं व कई किस्म के पौधों पर परजीवी होते हैं। सूत्रकृमि मिल्वाडेगाइन इनकोगनीशिया तंबाकू के पौधों की जड़ों को संक्रमित कर उसकी पैदावार को काफी कम कर देता है। उपरोक्त संक्रमण को रोकने हेतु एक नवीन योजना को स्वीकार किया गया है जो आरएनए अंतरक्षेप की प्रक्रिया पर आधारित है। **आरएनए अंतरक्षेप** सभी ससीमकेंद्रकी जीनों में कोशकीय सुरक्षा की एक विधि है। इस विधि में विशिष्ट दूत आरएनए, पूरक द्विसूत्री आरएनए से वर्धित होने के पश्चात् निष्क्रिय हो जाता है जिसके फलस्वरूप दूत आरएनए के स्थानांतरण (ट्रांसलेशन)





को रोकता है। इस द्विसूत्रीय आरएनए का स्रोत, संक्रमण करने वाले विषाणु में पाए जाने वाले पूरक आरएनए जीनोम / पारांतरेक (ट्रांसपॉजान) के प्रतिकृत के उपरांत बनने वाले मध्यवर्ती आरएनए हैं।

एग्रोबैक्टिरियम संवाहकों का उपयोग कर सूत्रकृमि विशिष्ट जीनों को परपोषी पौधों में प्रवेश कराया जा चुका है (चित्र 12.2)। डीएनए का प्रवेश इस प्रकार कराया जाता है कि परपोषी कोशिकाओं में अर्थ (सैंस) व प्रति-अर्थ (एंटीसैंस) आरएनए का निर्माण करता है। ये दोनों आरएनए एक दूसरे के पूरक होते हैं जो द्विसूत्रीय आरएनए का निर्माण करते हैं; जिससे आरएनए अंतरक्षेप प्रारंभ होता है और इसी कारण से सूत्रकृमि के विशिष्ट दूत आरएनए निष्क्रिय हो जाते हैं। इसके फलस्वरूप पारजीवी परपोषी में विशिष्ट अंतरक्षेपी आरएनए की उपस्थिति से परजीवी जीवित नहीं रह पाता है। इस प्रकार पारजीवी पौधे अपनी सुरक्षा परजीवी से करते हैं (चित्र 12.2)।



**चित्र 12.2** पोषी पादप जनित ds आरएनए द्वारा सूत्रकृमि ग्रसन के विरुद्ध सुरक्षा में वृद्धि (अ) प्रारूपी नियंत्रित पादप मूलों (ब) पाँच दिनों तक जानबूझकर सूत्रकृमि द्वारा पारजीवी पादप की जड़ों का संक्रमण तथा साथ ही नवीन विधि द्वारा सुरक्षा

## 12.2 चिकित्सा में जैव प्रोद्योगिकी का उपयोग

पुनर्योगज डीएनए प्रोद्योगिकी विधियों का स्वास्थ्य सुरक्षा के क्षेत्र में अत्यधिक प्रभाव डाला है; क्योंकि इसके द्वारा उत्पन्न सुरक्षित व अत्यधिक प्रभावी चिकित्सीय औषधियों का उत्पादन अधिक मात्रा में संभव है। पुनर्योगज चिकित्सीय औषधियों का अवाँछित प्रतिरक्षात्मक प्रभाव नहीं पड़ता है जबकि ऐसा देखा गया है कि उपरोक्त उत्पाद जो अमानवीय स्रोतों से विलगित किए गए हैं, वे अवाँछित प्रतिरक्षात्मक प्रभाव डालते हैं। वर्तमान समय में लगभग 30 पुनर्योगज चिकित्सीय औषधियाँ विश्व में मनुष्य के प्रयोग हेतु स्वीकृत हो चुकी हैं। वर्तमान में; इनमें से 12 भारत में विपणित हो रही हैं।



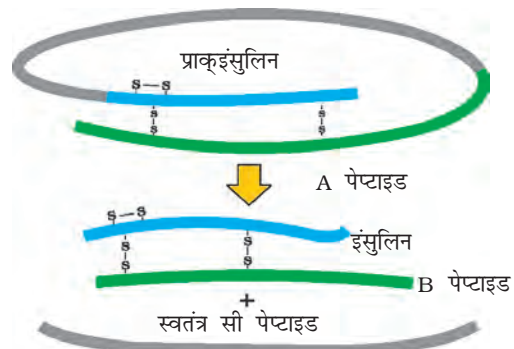
### 12.2.1 आनुवंशिकतः निर्मित इंसुलीन

वयस्कों में होने वाले मधुमेह का नियंत्रण निश्चित समय अंतराल पर इंसुलीन लेने से ही संभव है। मानव इंसुलीन पर्याप्त उपलब्ध न होने पर मधुमेह रोगी क्या करेंगे? उस पर विचार करने पर हम इस बात को स्वीकार करेंगे कि हमें अन्य जानवरों से इंसुलीन वियुक्त कर उपयोग में लाना होगा। क्या अन्य जंतुओं से वियुक्त इंसुलीन मानव शरीर में भी प्रभावी है और उसका मानव शरीर के प्रतिरक्षा अनुक्रिया पर कोई हानिकारक प्रभाव तो नहीं पड़ता है? तुम कल्पना करो कि यदि कोई जीवाणु मानव इंसुलीन बना सकता है तो निश्चय ही पूरी प्रक्रिया सरल हो जाएगी। तुम आसानी से ऐसे जीवाणु को अधिक मात्रा में विकसित कर जितना चाहे अपनी आवश्यकता के अनुसार इंसुलीन बना सकते हो। सोचो क्या इंसुलीन मधुमेही लोगों को मुख से दिया जा सकता है कि नहीं। क्यों?

मधुमेह रोगियों द्वारा उपयोग में लाए जाने वाला इंसुलीन जानवरों व सुअरों को मारकर उनके अग्नाशय से निकाला जाता था। जानवरों द्वारा प्राप्त इंसुलीन से कुछ रोगियों में प्रत्यूर्जा (एलर्जी) या बाह्य प्रोटीन के प्रति दूसरे तरह की प्रतिक्रिया होने लगती थी। इंसुलीन दो छोटी पालीपेटाइड शृंखलाओं का बना होता है, शृंखला 'ए' व शृंखला 'बी' जो आपस में डाईसल्फाइड बंधों द्वारा जुड़ी होती हैं (चित्र 12.3)। मानव सहित स्तनधारियों में इंसुलिन प्राक्-हार्मोन (प्राक्-एंजाइम की तरह प्राक्-हार्मोन को पूर्ण परिपक्व व क्रियाशील हार्मोन बनने के पहले संसाधित होने की आवश्यकता होती है) संश्लेषित होता है; जिसमें एक अतिरिक्त फैलाव होता है जिसे पेप्टाइड 'सी' कहते हैं। यह 'सी' पेप्टाइड परिपक्व इंसुलिन में नहीं होता, जो परिपक्वता के दौरान इंसुलिन से अलग हो जाता है। आर डीएनए तकनीकियों का प्रयोग करते हुए इंसुलिन के उत्पादन में मुख्य चुनौती यह है कि इंसुलिन को एकत्रित कर परिपक्व रूप में तैयार किया जाए। 1983 में एली लिली नामक एक अमेरिकी कंपनी ने दो डीएनए अनुक्रमों को तैयार किया जो मानव इंसुलिन की शृंखला ए और बी के अनुरूप होती हैं जिसे ड. कोलाई के प्लाज्मिड में प्रवेश कराकर इंसुलिन शृंखलाओं का उत्पादन किया। इन अलग-अलग निर्मित शृंखलाओं ए और बी को निकालकर डाईसल्फाइड बंध बनाकर आपस में संयोजित कर मानव इंसुलिन का निर्माण किया गया।

### 12.2.2 जीन चिकित्सा

यदि एक व्यक्ति आनुवंशिक रोग के साथ पैदा हुआ है, तो क्या इस रोग के उपचार हेतु कोई चिकित्सा व्यवस्था है? जीन चिकित्सा ऐसा ही एक प्रयास है। जीन चिकित्सा में उन विधियों का सहयोग लेते हैं जिनके द्वारा किसी बच्चे या भ्रूण में चिह्नित किए गए जीन दोषों का सुधार किया जाता है। उसमें रोग के उपचार हेतु जीनों को व्यक्ति की कोशिकाओं या ऊतकों में प्रवेश कराया जाता है। आनुवंशिक दोष वाली कोशिकाओं के



**चित्र 12.3** प्राक्-इंसुलिन का सी-पेप्टाइड के अलग होने के बाद इंसुलिन में परिपक्वता



उपचार हेतु सामान्य जीन को व्यक्ति या भ्रूण में स्थानांतरित करते हैं जो निष्क्रिय जीन की क्षतिपूर्ति कर उसके कार्यों को संपन्न करते हैं।

जीन चिकित्सा का पहले पहल प्रयोग वर्ष 1990 में एक चार वर्षीय लड़की में एडीनोसीन डिएमीनेज (एडीए) की कमी को दूर करने के लिए किया गया था। यह एंजाइम प्रतिरक्षातंत्र के कार्य के लिए अति आवश्यक होता है। उपरोक्त समस्या जो एंजाइम एडीनोसीन डिएमीनेज के लिए जिम्मेदार है जो इसके लोप होने के कारण होता है। कुछ बच्चों में एडीए की कमी का उपचार अस्थिमज्जा के प्रत्यारोपण से होता है। जबकि दूसरों में एंजाइम प्रतिस्थापन चिकित्सा द्वारा उपचार किया जाता है; जिसमें सुई द्वारा रोगी को सक्रिय एडीए दिया जाता है। उपरोक्त दोनों विधियों में यह कमी है कि ये पूर्णतया रोगनाशक नहीं है। जीन चिकित्सा में सर्वप्रथम रोगी के रक्त से लसीकाणु को निकालकर शरीर से बाहर संवर्धन किया जाता है। सक्रिय एडीए का सी डीएनए (पश्च विषाणु संवाहक का प्रयोगकर) लसीकाणु में प्रवेश कराकर अंत में रोगी के शरीर में वापस कर दिया जाता है। ये कोशिकाएँ मृतप्राय होती हैं; इसलिए आनुवंशिक निर्मित लसीकाणुओं को समय-समय पर रोगी के शरीर से अलग करने की आवश्यकता होती है। यदि मज्जा कोशिकाओं से विलगित अच्छे जीनों को प्रारंभिक भ्रूणीय अवस्था की कोशिकाओं से उत्पादित एडीए में प्रवेश करा दिए जाएँ तो यह एक स्थायी उपचार हो सकता है।

### 12.2.3 आणविक निदान

आप जानते हैं कि रोग के प्रभावी उपचार के लिए उसकी प्रारंभिक पहचान व उसके रोग क्रिया विज्ञान को समझना अति आवश्यक है। उपचार की परंपरागत विधियों (सीरम व मूत्र विश्लेषण आदि) का प्रयोग करते हुए रोग का प्रारंभ में पता लगाना संभव नहीं है। पुनर्योगज डीएनए प्रौद्योगिकी, पॉलीमरेज शृंखला अभिक्रिया व एंजाइम सहलग्न प्रतिरक्षा शोषक आमापन (एलाइजा) कुछ ऐसी तकनीक है जिसके द्वारा रोग की प्रारंभिक पहचान की जा सकती है।

रोग जनक (जीवाणु, विषाणु आदि) की उपस्थिति का सामान्यतया तब पता चलता है जब उसके द्वारा उत्पन्न रोग के लक्षण दिखाई देने लगते हैं। उस समय तक रोगजनक की संख्या शरीर में पहले से काफी अधिक हो चुकी होती है। जब बहुत कम संख्या में जीवाणु या विषाणु (उस समय जब रोग के लक्षण स्पष्ट दिखाई नहीं देते) हो तब उनकी पहचान पीसीआर द्वारा उनके न्यूक्लिक अम्ल के प्रवर्धन (एंप्लीफिकेशन) द्वारा कर सकते हैं। क्या तुम बता सकते हो कि पीसीआर द्वारा डीएनए की बहुत कम मात्रा की पहचान कैसे की जाती है? संदेहात्मक एड्स रोगियों में एच आइ वी की पहचान हेतु पीसीआर आजकल सामान्यतया उपयोग में लाया जा रहा है। उसका उपयोग संदेहात्मक कैंसर रोगियों के जीन में होने वाले उत्परिवर्तनों को पता लगाने में भी किया जा रहा है। यह एक उपयोगी तकनीकी है जिसके द्वारा बहुत सारी दूसरे आनुवंशिक दोषों की पहचान की जा सकती है।

डीएनए या आरएनए की एकल शृंखला से एक विकिरण सक्रिय अणु (संपरीक्षित्र) जुड़कर कोशिकाओं के क्लोन में अपने पूरक डीएनए से संकरित होते हैं, जिसे बाद में



स्वविकिरणी चित्रण (आटोरेडियोग्राफी) द्वारा पहचानते हैं। क्लोन जिसमें उत्परिवर्तित जीन मिलते हैं। छायाचित्र पटल (फोटोग्रैफिक फिल्म) पर दिखाई नहीं देते हैं; क्योंकि संपरीक्षित (प्रोब) व उत्परिवर्तित जीन आपस में एक दूसरे के पूरक नहीं होते हैं।

एंजाइम सहलग्न प्रतिरक्षा शोषक आमामन (एलाइजा) प्रतिजन- प्रतिरक्षी पारस्परिक क्रिया के सिद्धांत पर कार्य करता है। रोग जनकों के द्वारा उत्पन्न संक्रमण की पहचान प्रतिजनों (प्रोटीनजन, ग्लाइकोप्रोटींस आदि) की उपस्थिति या रोग जनकों के विरुद्ध संश्लेषित प्रतिरक्षी की पहचान के आधार पर की जाती है।

### 12.3 पारजीवी जंतु ( ट्रांसजेनिक एनिमल्स )

ऐसे जंतुओं जिनके डीएनए में परिचालन द्वारा एक अतिरिक्त (बाहरी) जीन व्यवस्थित होता है जो अपना लक्षण व्यक्त करता है उसे **पारजीवी जंतु** कहते हैं। पारजीवी चूहे, खरगोश, सूअर, भेड़, गाय व मछलियाँ आदि पैदा हो चुके हैं उसके बावजूद उपस्थित पारजीवी जंतुओं में 95 प्रतिशत से अधिक चूहे हैं। उस तरह के जंतुओं का उत्पादन क्यों किया जाता है? इस तरह के परिवर्तन से मानव को क्या लाभ है? अब हम कुछ सामान्य कारणों का पता करेंगे—

- (क) **सामान्य शरीर क्रिया व विकास** — पारजीवी जंतुओं का निर्माण विशेषरूप से इस प्रकार किया जाता है जिनमें जीनों के नियंत्रण व इनका शरीर के विकास व सामान्य कार्यों पर पड़ने वाले प्रभावों का अध्ययन किया जाता है; उदाहरणार्थ- विकास में भागीदार जटिल कारकों जैसे-इंसुलिन की तरह विकास कारक का अध्ययन। दूसरी जाति (स्पीशीज़) के जींस को प्रवेश कराने के उपरांत उपरोक्त कारकों के निर्माण में होने वाले परिवर्तनों से होने वाले जैविक प्रभाव का अध्ययन तथा कारकों की शरीर में जैविक भूमिका के बारे में सूचना मिलती है।
- (ख) **रोगों का अध्ययन** — अनेकों पारजीवी जंतु इस प्रकार निर्मित किए जाते हैं जिनसे रोग के विकास में जीन की भूमिका क्या होती है? यह विशिष्ट रूप से निर्मित है जो मानव रोगों के लिए नमूने के रूप में प्रयोग किए जाते हैं ताकि रोगों के नए उपचारों का अध्ययन हो सके। वर्तमान समय में मानव रोगों जैसे-कैंसर, पुटीय रेशामयता (सिस्टीक फाइब्रोसिस), रूमेटवाएड संधिशोथ व एल्जिमर हेतु पारजीवी नमूने उपलब्ध हैं।
- (ग) **जैविक उत्पाद** — कुछ मानव रोगों के उपचार के लिए औषधि की आवश्यकता होती है जो जैविक उत्पाद से बनी होती है। ऐसे उत्पादों को बनाना अक्सर बहुत महंगा होता है। पारजीवी जंतु जो उपयोगी जैविक उत्पाद का निर्माण करते हैं उनमें डीएनए के भाग (जीनों) को प्रवेश कराते हैं जो विशेष उत्पाद के निर्माण में भाग लेते हैं। उदाहरण-मानव प्रोटीन (अल्फा-1 एंटीट्रिप्सीन ) का उपयोग इंफासीमा के निदान में होता है। ठीक उसी तरह का प्रयास फिनाइल कीटोनूरिया (पीकेयू) व पुटीय रेशामयता के निदान हेतु किया गया है। वर्ष 1977 में सर्वप्रथम पारजीवी गाय 'रोजी' मानव प्रोटीन संपन्न दुग्ध (2.4 ग्राम





प्रति लीटर) प्राप्त किया गया। इस दूध में मानव अल्फा-लेक्टएल्बुमिन मिलता है जो मानव शिशु हेतु अत्यधिक संतुलित पोषक तत्व है जो साधारण गाय के दूध में नहीं मिलता है।

- (घ) **टीका सुरक्षा** — टीकों का मानव पर प्रयोग करने से पहले टीके की सुरक्षा जाँच के लिए पारजीवी चूहों को विकसित किया गया है। पोलियो टीका की सुरक्षा जाँच के लिए पारजीवी चूहों का उपयोग किया जा चुका है। यदि उपरोक्त प्रयोग सफल व विश्वसनीय पाए गए तो टीका सुरक्षा जाँच के लिए बंदर के स्थान पर पारजीवी चूहों का प्रयोग किया जा सकेगा।
- (ङ) **रासायनिक सुरक्षा परीक्षण** — यह आविषालुता सुरक्षा परीक्षण कहलाता है। यह वही विधि है जो औषधि आविषालुता परीक्षण हेतु प्रयोग में लाई जाती है। पारजीवी जंतुओं में मिलने वाले कुछ जीन इसे आविषालु पदार्थों के प्रति अतिसंवेदनशील बनाते हैं जबकि अपारजीवी जंतुओं में ऐसा नहीं है। पारजीवी जंतुओं को आविषालु पदार्थों के संपर्क में लाने के बाद पड़ने वाले प्रभावों का अध्ययन किया जाता है। उपरोक्त जंतुओं में आविषालुता परीक्षण करने से कम समय में परिणाम प्राप्त हो जाता है।

## 12.4 नैतिक मुद्दे

माजव जाति द्वारा अन्य जीवधारियों से हितसाधन बिना विनियमों के और अधिक नहीं किया जा सकता है। सभी मानवीय क्रियाकलापों के लिए जो जीवधारियों के लिए असुरक्षात्मक या सहायक हो उनमें आचरण की परख के लिए कुछ नैतिक मानदंडों की आवश्यकता है।

ऐसे मुद्दों में नैतिकता से इनमें जैववैज्ञानिक महत्त्व भी है। जीवों के आनुवंशिक रूपांतरण के तब अप्रत्याशित परिणाम निकल सकते हैं जब ऐसे जीवों का पारिस्थितिक तंत्र में सन्निविष्ट कराया जाए।

इसीलिए, भारत सरकार ने ऐसे संगठनों को स्थापित किया है जैसे कि जी ई ए सी (जेनेटिक इंजीनयरिंग एप्रवल कमेटी अर्थात् आनुवंशिक अभियांत्रिकी संस्तुति समिति); जो कि जी एम अनुसंधान संबंधी कार्यों की वैधानिकता तथा जन सेवाओं के लिए जी एम जीवों के सन्निवेश की सुरक्षा आदि के बारे में निर्णय लेगी।

जन सेवा (जैसे कि आहार एवं चिकित्सा स्रोतों हेतु) में जीवों के रूपांतरण/उपयोगिता जो इनके जीवों के लिए अनुमत एकस्व की समस्याएँ उत्पन्न हुई हैं।

जनमानस में इस बात को लेकर आक्रोश है कि कुछ कंपनियाँ आनुवंशिक पदार्थों, पौधों व अन्य जैविक संसाधनों का उपयोग कर, बनने वाले उत्पाद व तकनीकी के लिए एकस्व (पेटेंट) प्राप्त कर रहे हैं जबकि यह बहुत समय पहले से विकसित व पहचानी जा चुकी है और किसान तथा विशेष क्षेत्र या देश के लोगों द्वारा इनका उपयोग किया जा रहा है।

धान एक महत्त्वपूर्ण खाद्यान्न है जिसके बारे में हजारों वर्ष पूर्व एशिया के कृषि के इतिहास में वर्णन मिलता है। एक अनुमान के अनुसार केवल भारत में धान की लगभग 2 लाख किस्में मिलती हैं। भारत में धान की जो विविधता है, वह विश्व की सर्वाधिक



विविधताओं में एक है। बासमती धान अपनी सुगंध व स्वाद के लिए मशहूर है और इसकी 27 पहचानी गयी किस्में भारत में उगायी जाती हैं। पुराने ग्रंथों, लोकसाहित्य व कविताओं में बासमती का वर्णन मिलता है, जिससे यह पता चलता है कि यह कई सौ वर्ष पहले से उगाया जाता रहा है। वर्ष 1977 में एक अमरीकी कंपनी ने बासमती धान पर अमेरिकन एकस्व व ट्रेडमार्क कार्यालय द्वारा एकस्व अधिकार प्राप्त कर लिया था। इससे कंपनी बासमती की नई किस्मों को अमेरिका व विदेशों में बेच सकती है। बासमती की यह नयी किस्म वास्तव में भारतीय किसानों की किस्मों से विकसित की गयी थी। भारतीय बासमती को अर्द्ध बौनी किस्मों से संकरण कराकर नयी खोज या एक नयी उपलब्धि का दावा किया था। एकाधिकार के लागू होने के बाद इस एकाधिकार के तहत अन्य लोगों द्वारा बासमती का विक्रय प्रतिबंधित हो सकता था।

मल्टीनेशनल कंपनियों व दूसरे संगठनों द्वारा किसी राष्ट्र या उससे संबंधित लोगों से बिना व्यवस्थित अनुमोदन व क्षतिपूरक भुगतान के जैव संसाधनों का उपयोग करना **बायोपाइरेसी** कहलाता है।

बहुत सारे औद्योगिक राष्ट्र आर्थिक रूप से काफी सम्पन्न हैं लेकिन उनके पास जैव विविधता एवं परंपरागत ज्ञान की कमी है। इसके विपरीत विकसित व अविकसित विश्व जैव विविधता व जैव संसाधनों से संबंधित परंपरागत ज्ञान से संपन्न है। जैव-संसाधनों से संबंधित परंपरागत ज्ञान का उपयोग आधुनिक उपयोगों में किया जा सकता है जिसके फलस्वरूप इनके व्यापारीकरण के दौरान, समय, शक्ति व खर्च को बचाया जा सकता है।

विकसित व विकासशील राष्ट्रों के बीच अन्याय, अपर्याप्त क्षतिपूर्ति व लाभों की भागीदारी के प्रति भावना विकसित हो रही है। इसके कारण कुछ राष्ट्रों ने अपने जैव संसाधनों व परंपरागत ज्ञान का बिना पूर्व अनुमति के उपयोग पर प्रतिबंध के लिए नियमों को बना रहे हैं।

भारतीय संसद ने हाल ही में भारतीय एकस्व बिल (इंडियन पेटेंट बिल) में दूसरा संशोधन पारित किया है जो ऐसे मुद्दों को ध्यानार्थ लेगा, जिसके अंतर्गत एकस्व नियम संबंधी आपात्कालिक प्रावधान तथा अनुसंधान एवं विकासीय प्रयास शामिल हैं।

### सारांश

सूक्ष्मजीवों, पौधों, जंतुओं व अनेक उपापचयी कार्यप्रणाली का उपयोग करते हुए जैव प्रौद्योगिकी द्वारा मनुष्य के लिए कई उपयोगी पदार्थों का निर्माण हो चुका है। पुनर्योगज डीएनए प्रौद्योगिकी ने ऐसे सूक्ष्मजीवों, पौधों व जंतुओं का निर्माण संभव कर दिया है जिनमें अभूतपूर्व क्षमता निहित है। आनुवंशिकतः रूपांतरित जीवों का निर्माण एक या एक से अधिक जीन का, एक जीव से दूसरे जीव में स्थानांतरण की प्राकृतिक विधि के अतिरिक्त पुनर्योगज डी एन ए प्रौद्योगिकी का उपयोग करते हुए किया गया है।

जीएम पौधों का उपयोग फसल उत्पादन बढ़ाने, पशु फसल उत्पाद नुकसान में कमी व फसलों का प्रतिबंधों के प्रति अधिक सहनशील बनाने में अत्यन्त उपयोगी है। ऐसे बहुत





जीएम फसल पौधे हैं जिनका खाद्य पौष्टिक स्तर काफी उन्नत है व उन (पीड़क-प्रतिरोधी फसलों) की रासायनिक कीटनाशकों पर निर्भरता काफी कम है।

पुनर्योगज डीएनए प्रौद्योगिकी प्रक्रियाओं का स्वास्थ्य सुरक्षा के क्षेत्र में अत्यधिक महत्व है; क्योंकि इनके द्वारा सुरक्षित व अत्यधिक प्रभावशाली औषधियों का निर्माण संभव है। पुनर्योगज चिकित्सीय औषधियाँ मनुष्य के प्रोटीन के समतुल्य हैं। इस कारण से इनका प्रतिरक्षात्मक अवांछित प्रभाव नहीं पड़ता है व इनसे संक्रमण के खतरे भी नहीं होते हैं जैसा कि अमानवीय स्रोतों से विलगित इस प्रकार के पदार्थों से होता है। जीवाणु में रचित मानव इंसुलिन जो संरचनात्मक प्राकृतिक अणु से पूर्णतया समान होता है।

पारजीवी जंतु मानव रोगों जैसे- कैंसर, पुटीय रेशामयता, रूमेट्वाएड संधिशोथ व एलजीमर के लिए नमूने के रूप में उपयोग किए जाते हैं, जिससे हमें रोग के विकास में जीन की भूमिका को पता लगाने में सुविधा होती है।

जीन चिकित्सा द्वारा खासतौर से आनुवंशिक रोगों को दूर करने के लिए व्यक्ति विशेष की कोशिकाओं व ऊतकों में जीन को प्रवेश कराते हैं। इसके कारण खराब उत्परिवर्तित विकल्पी के स्थान पर सक्रिय विकल्पी या जीन टारगेटिंग के द्वारा उपचार होता है, जिनमें जीन प्रवर्धन शामिल हैं। विषाणु जो अपने परपोषी पर आक्रमण कर अपने विभाजन चक्र के लिए अपना आनुवंशिक पदार्थ परपोषी की कोशिकाओं में प्रवेश करता है। इसे संवाहक के रूप में प्रयोग कर स्वस्थ जीन या नए जीन के भाग को स्थानांतरित किया जा सकता है।

सूक्ष्मजीवों, पौधों व जंतुओं के व्यवहार के प्रति वर्तमान दिलचस्पी ने गंभीर नैतिक प्रश्न खड़े कर दिए हैं। भारत सरकार ने इस दिशा में कुछ ठोस कदम उठाए हैं।

## अभ्यास

- बीटी (Bt) आविष के रवे कुछ जीवाणुओं द्वारा बनाए जाते हैं लेकिन जीवाणु स्वयं को नहीं मारते हैं; क्योंकि—
  - जीवाणु आविष के प्रति प्रतिरोधी है।
  - आविष अपरिपक्व है।
  - आविष निष्क्रिय होता है।
  - आविष जीवाणु की विशेष थैली में मिलता है।
- पारजीवी जीवाणु क्या है? किसी एक उदाहरण द्वारा सचित्र वर्णन करो।
- आनुवंशिक रूपांतरित फसलों के उत्पादन के लाभ व हानि का तुलनात्मक विभेद किजिए।
- क्राई प्रोटींस क्या है? उस जीव का नाम बताओ जो इसे पैदा करता है। मनुष्य इस प्रोटीन को अपने फायदे के लिए कैसे उपयोग में लाता है।

जैव प्रौद्योगिकी एवं उसके उपयोग



5. जीन चिकित्सा क्या है? एडीनोसीन डिएमीनेज (ए डी ए) की कमी का उदाहरण देते हुए इसका सचित्र वर्णन करें।
6. ई.कोलाई जैसे जीवाणु में मानव जीन की क्लोनिंग एवं अभिव्यक्ति के प्रायोगिक चरणों का आरेखीय निरूपण प्रस्तुत करें।
7. तेल के रसायन शास्त्र तथा आरडीएनए जिसके बारे में आपको जितना भी ज्ञान प्राप्त है, उसमें आधार बीजों तेल हाइड्रोकार्बन हटाने की कोई एक विधि सुझाओ।
8. इंटरनेट से पता लगाओ कि गोल्डन राइस (गोल्डन धान) क्या है?
9. क्या हमारे रक्त में प्रोटीओजेज तथा न्यूक्लीऐजिज हैं?
10. इंटरनेट से पता लगाओ कि मुख्य सक्रिय औषध प्रोटीन को किस प्रकार बनाएँगे। इस कार्य में आने वाली मुख्य समस्याओं का वर्णन करें।

© NCERT  
not to be republished