जैव प्रौद्योगिकी : सिद्धान्त एवं प्रक्रम
(BIOTECHNOLOGY : PRINCIPLES AND PROCESSES)

11 Chapter

INSIDE THIS CHAPTER

11.1 परिचय एवं अर्थ
11.2 परिभाषा
11.3 सिद्धान्त
11.4 साधन
11.5 प्रक्रियायें या प्रक्रम
11.6 Point to Interest
11.7 शब्दावली
11.8 N.C.E.R.T. पाठ्य पुस्तक के प्रश्न उत्तर
11.9 अन्य महत्वपूर्ण प्रश्न
11.10 वस्तुनिष्ठ प्रश्न

11.1 परिचय एवं अर्थ (Introduction & Meaning)

- जैव प्रौद्योगिकी (Biotechnology) शब्द जीव विज्ञान (Biology) तथा प्रौद्योगिकी (Technology) शब्दों के समेकन से बना है। **प्रारम्भ में जैविक प्रक्रियाओं द्वारा मानव के लिए उपयोगी उत्पादों या प्रक्रमों के विकास को जैव प्रौद्योगिकी कहा जाता था। इसे प्राचीन जैव प्रौद्योगिकी** कहा जा सकता है। उदाहरण–सूक्ष्य जैविक प्रक्रियाओं द्वारा सिरका, दही, शराब (एल्कोहॉल) व डबल रोटी आदि का निर्माण। **वर्तमान समय में पुनर्योगज DNA तकनीक के प्रयोग द्वारा जीवों में बहुमूल्य क्षमताओं के विकास को नवीन जैव प्रौद्योगिकी कहा जाता है।** आनुवांशिक रूप से रूपान्तरित जीवों (Genetically modified Organism–GMO) द्वारा मानव के लिए उपयोगी उत्पादों का अधिक मात्रा में उत्पादन करना ही नवीन जैव प्रौद्योगिकी है। इसमें पात्रे निषेचन द्वारा परखनली शिशु निर्माण, जीन संश्लेषण, जीन थेरेपी व DNA टीका निर्माण आदि शामिल किए जा सकते हैं।

11.2 परिभाषा

1. **उत्पाद व सेवाओं के लिए प्राकृतिक विज्ञान एवं जीवों, कोशिकाओं एवं उनके भागों तथा आण्विक प्रतिरूपों के समायोजन को जैव प्रौद्योगिकी कहते हैं**— E.F.B के अनुसार, (यूरोपीय जैव प्रौद्योगिकी संघ = The European federation of Bioitechnology)

   या

   जैव रसायन, सूक्ष्म जीव विज्ञान, आनुवांशिकी एवं रसायन अभियांत्रिकी के तकनीकी ज्ञान के एकात्मक सघन उपयोग को **जैवप्रौद्योगिकी** कहते हैं।

2. जीवों, सजीव तन्त्रों, सूक्ष्म जीवों या कोशिकीय अवयवों की तकनीक का मानव सेवा के लिए उपयोग करने को ही जैव प्रौद्योगिकी कहते हैं।
3. जीव विज्ञान की प्रौद्योगिकी का मानव सेवा के लिए उपयोग करने को जैव प्रौद्योगिकी कहते हैं।

   इस अध्याय में जैव प्रौद्योगिकी के सिद्धान्तों, साधनों एवं प्रक्रियाओं का विस्तार से अध्ययन निम्नलिखित शीर्षकों के अन्तर्गत किया जा रहा है—

I. जैव प्रौद्योगिकी के सिद्धान्त (Principles of Biotechnology)

II. पुनर्योगज DNA तकनीक के साधन (Tools of Recombinant DNA Technology)

III. पुनर्योगज DNA तकनीक के प्रक्रम (Processes of Recombinant DNA Technology)

11.3 जैव प्रौद्योगिकी के सिद्धान्त

आधुनिक जैव प्रौद्योगिकी में निम्नलिखित तकनीकों का प्रमुख योगदान रहा है—

(i) **आनुवांशिक अभियान्त्रिकी (Genetic Engineering)**— आनुवांशिक अभियान्त्रिकी का जनक **पॉल बर्ग** (Paul Berg) को माना जाता है। जीवों में वांछित लक्षण प्रारूप प्राप्त करने के लिए आनुवांशिक पदार्थ (जीन या DNA खंड) को जोड़ने, हटाने या ठीक करने को आनुवांशिक अभियांत्रिकी कहते हैं। इसे 'Tailoring of DNA' भी कहा जाता है।

(ii) **रासायनिक अभियांत्रिकी (Chemical Engineering)**— इसके अन्तर्गत रोगाणु रहित वातावरण में केवल वांछित सूक्ष्मजीवों या प्रोकेरियोटिक कोशिकाओं की वृद्धि करवाकर अधिक मात्रा में जैव प्रौद्योगिकी उत्पाद (जैसे एन्टीबॉयोटिक, टीके एवं एंजाइम आदि) प्राप्त किये जाते हैं।

- अलैंगिक जनन द्वारा आनुवांशिक सूचनाएं परिरक्षित रहती है जबकि लैंगिक जनन द्वारा विभिन्नताएँ उत्पन्न होती हैं।
- परम्परागत संकरण द्वारा वांछित जीनों के साथ-साथ अवांछित जीनों का भी समावेश हो जाता है जबकि आनुवांशिक अभियांत्रिकी द्वारा केवल वांछित जीन या जीनों का ही जीवों में समावेश होता है।
- समावेशित (स्थानान्तरित) विजातीय DNA खंड या जीन ग्राही गुणसूत्र से जुड़कर उसका एक हिस्सा बन जाता है।
- विजातीय DNA खंड के गुणन व प्रतिकृतियन के लिए यह आवश्यक है कि ग्राही गुणसूत्र में प्रतिकृतियन का उद्‌गम हो।
- प्रतिकृतियन का उद्‌गम एक विशिष्ट DNA अनुक्रम होता है जो प्रतिकृतियन प्रारम्भ करने के लिए उत्तरदायी होता है।
- विजातीय डी.एन.ए. (Alien DNA) परपोषी जीव में स्वयं की प्रतिकृति या गुणन करता है, इसे क्लोनिंग कहते हैं।

पुनर्योगज DNA का निर्माण— सर्वप्रथम स्टेनले कोहेन व हरबर्ट बोयर (Stanley Cohen व Herbert Boyer 1972) ने पुनर्योगज DNA का निर्माण किया। उन्होंने ***सालमोनेला टाइफीमूरियम*** *(Salmonell typhimurium)* के मूल प्लाज्मिड में प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन को जोड़ने में सफलता प्राप्त की। इसके लिए उन्होंने आण्विक कैंचियों (Restriction Engyme) द्वारा प्रतिजैविक प्रतिरोधी प्लाज्मिड से प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन वाले DNA खंड को काटा। इस DNA खण्ड को वाहक (प्लाज्मिड) DNA से DNA लाइगेज एन्जाइम द्वारा जोड़ने पर संकर या काइमेरिक प्लाज्मिड (DNA) या पुनर्योगज DNA बनता है। इसे *ई. कोलाई (E.coli)* में स्थानान्तरित करने पर यह DNA पॉलीमरेज एंजाइम की सहायता से अनेक प्रतिकृतिया बना लेता है। प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन के *ई. कोलाई* में गुणन को प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन की क्लोनिंग कहते हैं।

किसी जीव में आनुवांशिक रूपांतरण के प्रमुख चरण निम्नलिखित होते हैं—

(i) वांछित जीन युक्त DNA की पहचान करना।

(ii) वांछित जीन या DNA खंड का परपोषी में स्थानान्तरण करना।

(iii) स्थानान्तरित DNA को परपोषी में सुरक्षित रखना तथा उसको संतति में स्थानान्तरित करना।

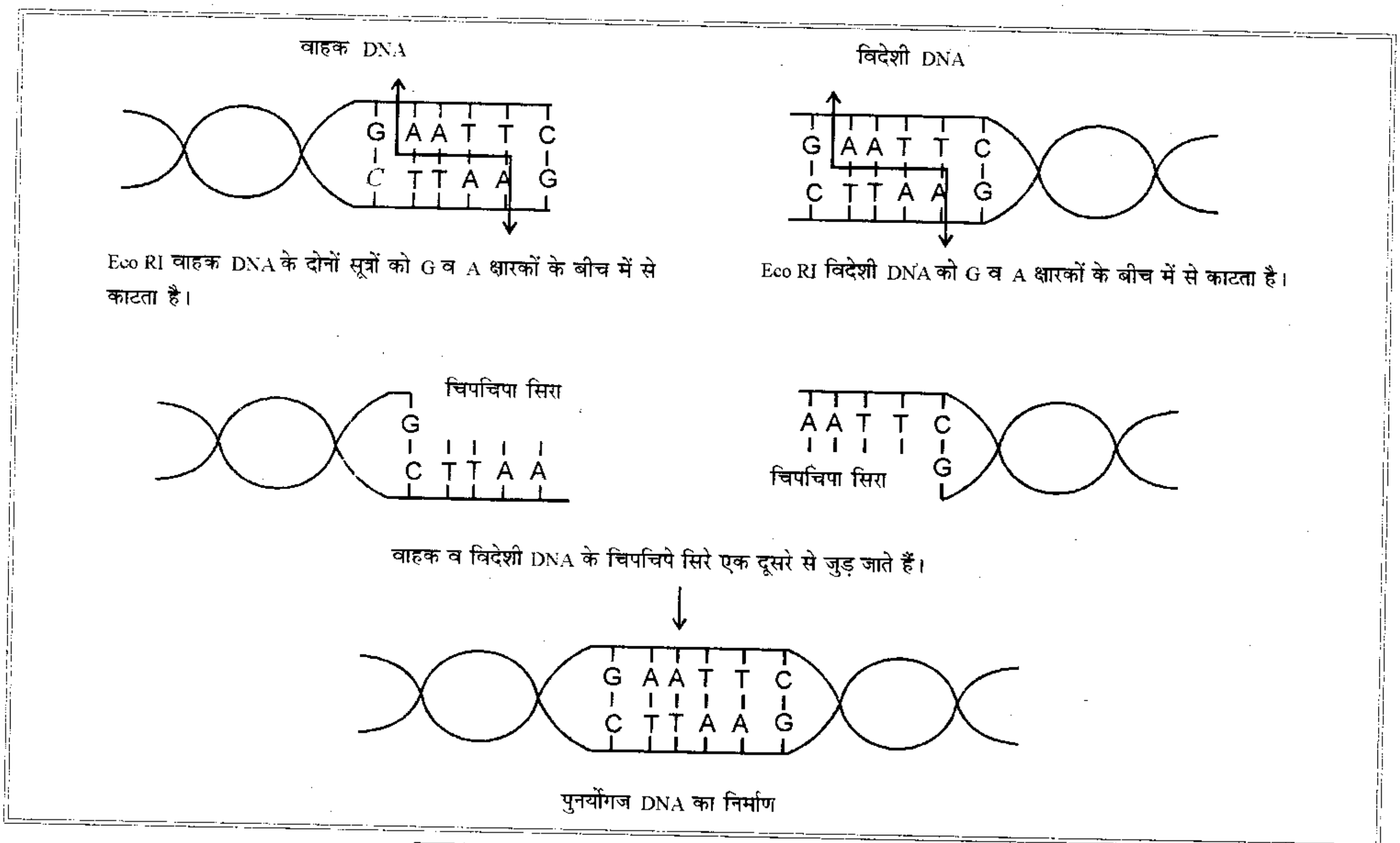
11.4 पुनर्योगज DNA तकनीक के साधन (Tools of Recombinant DNA Technology)

1. प्रतिबंधन एंजाइम (Restricion Enzyme)–विस्तृत वर्णन
2. पॉलीमरेज एंजाइम (Polymerase Enzyme)–संक्षिप्त वर्णन
3. डी.एन.ए. लाइगेज एंजाइम DNA Ligase Enzyme)–संक्षिप्त वर्णन
4. वाहक (Vectors)–विस्तृत वर्णन
5. परपोषी जीव (Host Organism)–विस्तृत वर्णन।

1. प्रतिबंधन एंजाइम (Restriction Enzyme)

- ये एंजाइम DNA को विशेष स्थलों से काटते हैं।
- ये केवल द्विसूत्री DNA पर ही क्रिया करते हैं।
- इन्हें आण्विक कैंचियां या रासायनिक चाकू भी कहा जाता है।
- सन् 1963 में दो एन्जाइम पृथक किए गए।
- ये एन्जाइम ई. कोलाई में जीवाणुभोजी की वृद्धि रोकते हैं।
- इनमें से एक एन्जाइम DNA से मिथाइल समूह को जोड़ता है तथा दूसरा एन्जाइम DNA को काटता है जिसे प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लिएज कहा जाता है।
- Hind-II प्रथम प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लिएज एंजाइम है।
- Hind-II यह DNA को ऐसे विशिष्ट स्थलों से काटता है, जहाँ छः क्षारक युग्मों का एक विशेष अनुक्रम पाया जाता है।
- क्षारक युग्मों के इस विशेष अनुक्रम को Hind-II के लिए पहचान अनुक्रम या अभिज्ञान स्थल कहते हैं। यहाँ DNA के दोनों सूत्रों पर एक-एक कट लगाया जाता है।
- जीवाणुओं के 230 से भी ज्यादा प्रभेदों से 900 से भी अधिक प्रतिबंधन एंजाइम अलग किए जा चुके हैं।
- प्रत्येक प्रतिबंधन एंजाइम एक भिन्न पहचान अनुक्रम को पहचानता है।
- प्रतिबंधन एंजाइम न्यूक्लिएज (Nucleases) समूह के अन्तर्गत आते हैं।
- न्यूक्लिएज एन्जाइम दो प्रकार के होते हैं-(अ) एक्सोन्यूक्लिएज (Exo-nucleases) (ब) एण्डोन्यूक्लिएज (Endonucleases)
- एक्सोन्यूक्लिएज एंजाइम DNA के सिरे से न्यूक्लिओटाइड्स को काटता है।
- एन्डोन्यूक्लिएज एंजाइम DNA को बीच में से विशिष्ट स्थानों पर काटता है।

- एन्डोन्यूक्लिएज एंजाइम DNA अनुक्रम की लम्बाई का निरीक्षण करके विशिष्ट पहचान अनुक्रम का अभिज्ञान कराता है।
- विशिष्ट अनुक्रम की पहचान होने के बाद DNA के दोनों सूत्रों को शर्करा फॉस्फेट आधार स्तम्भों के विशिष्ट स्थानों से एंडोन्यूक्लिएज द्वारा काटा जाता है।
- प्रत्येक प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लिएज एंजाइम DNA में विशिष्ट पेलीन्ड्रोमिक न्यूक्लियोटाइड्स के अनुक्रम को पहचानता है। जैसे Eco RI G–A–A–T–T–C क्षारक अनुक्रम को पहचान कर उसे G व A के बीच में से काटता है।



चित्र 11.1 : प्रतिबंधन एंजाइम की क्रियाविधि का रेखाचित्र

पेलिन्ड्रोम–यह वर्णों या अक्षरों का एक ऐसा समूह है जिससे बना शब्द आगे या पीछे से पढ़ने पर समान शब्द बनाता है जैसे मलयालम, कनक आदि। यहाँ DNA पेलिन्ड्रोम से यह तात्पर्य है कि DNA के दोनों सूत्रों के क्षारक युग्मों का ऐसा अनुक्रम जिसे पढ़ने का अभिविन्यास समान रखा जाये (जैसे 5' → 3' या 3' → 5') तो दोनों DNA सूत्रों पर एक जैसे अनुक्रम पढ़ने को मिलता है। उदाहरण–

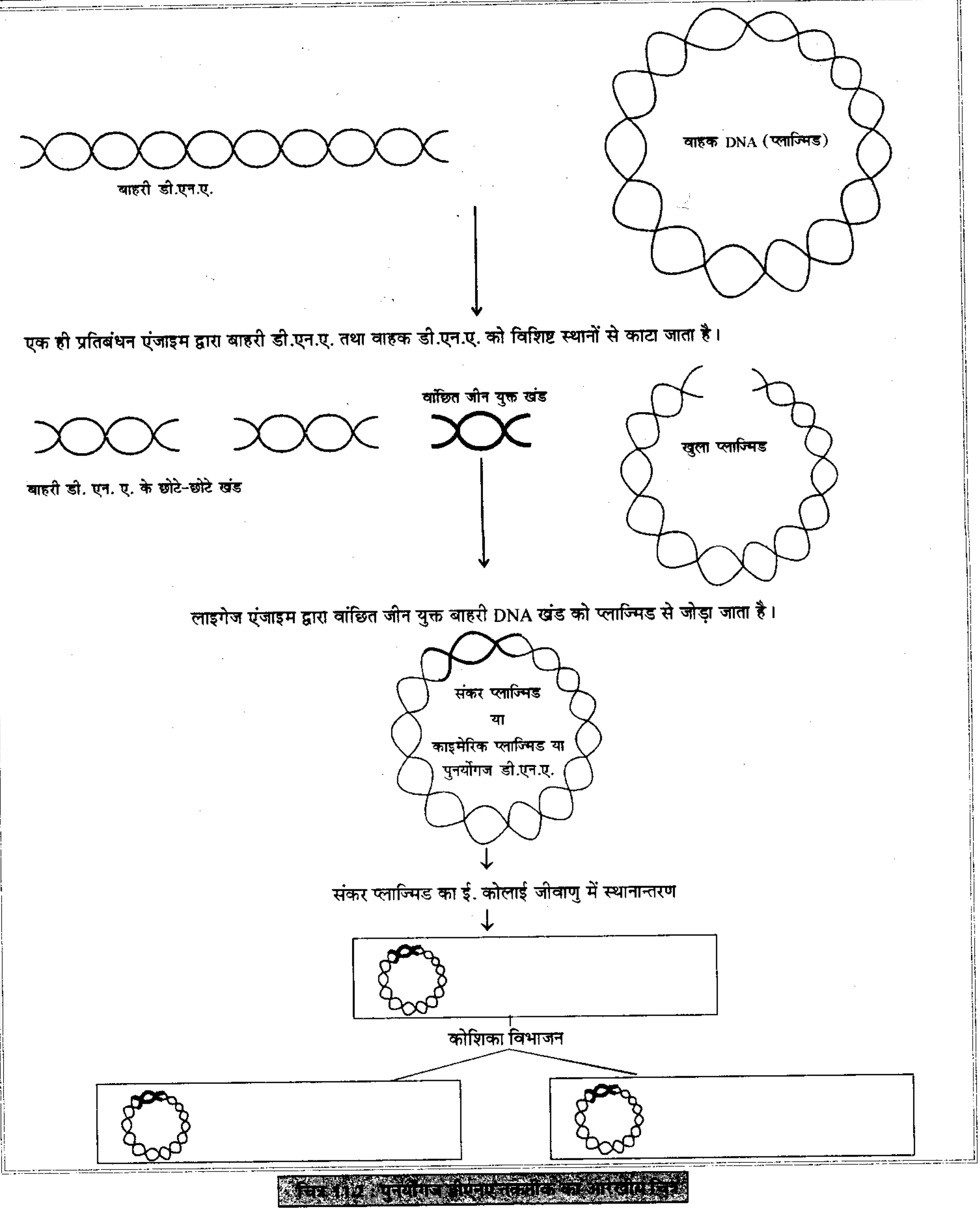
$$5' \rightarrow G-A-A-T-T-C \rightarrow 3'$$
$$3' \leftarrow C-T-T-A-A-G \leftarrow 5'$$

उपर्युक्त उदाहरण में दोनों सूत्रों के क्षारकों का अनुक्रम 5' से 3' दिशा में पढ़ने पर या 3' से 5' दिशा में पढ़ने पर समान रहता है। दोनों सूत्रों में 5' → 3' दिशा में G–A–A–T–T–C अनुक्रम आता है।

- प्रतिबंधन एंजाइम पेलिन्ड्रोम क्षेत्र के मध्य से थोड़ा हट कर दोनों सूत्रों के समान क्षारकों के बीच में से काटता है, जिससे प्रत्येक सूत्र में एक चिपचिपा सिरा बन जाता है।
- आनुवांशिक अभियान्त्रिकी में वाहक DNA व विदेशी DNA को एक ही प्रतिबंधन एंजाइम द्वारा काटा जाता है जिससे दोनों के कटे हुए चिपचिपे सिरे समान प्राप्त हो।
- वाहक व विदेशी DNA के समान चिपचिपे सिरे जुड़ कर पुनर्योगज DNA या संकर DNA या काइमेरिक DNA का निर्माण करते हैं।

प्रतिबंधन एंजाइमों का नामकरण— प्रतिबंधन एंजाइम के नाम का पहला केपिटल अक्षर उस प्रोकेरियोटिक कोशिका के वंश के नाम का पहला अक्षर होता है जिससे कि उसे प्राप्त किया गया है। इस प्रकार दूसरा व तीसरा अक्षर जाति से लिया जाता है। जैसे Eco RI एन्जाइम *ऐश्चेरिशिया कोलाई (Escherichia coli)* से प्राप्त किया गया है। अत: E अक्षर वंश से, co अक्षर जाति से लेकर Eco शब्द बना है। यहां R प्रभेद (strain) का प्रतिनिधित्व करता है। अत: E = Escherichia, co = coli, R = प्रभेद (strain), I – रोमन नम्बर से Eco RI एंजाइम का नामकरण हुआ। इसी प्रकार

H = Haemoiphilus, in = influenzae, d-II– प्रभेद से Hind-II का एंजाइम का नामकरण हुआ।

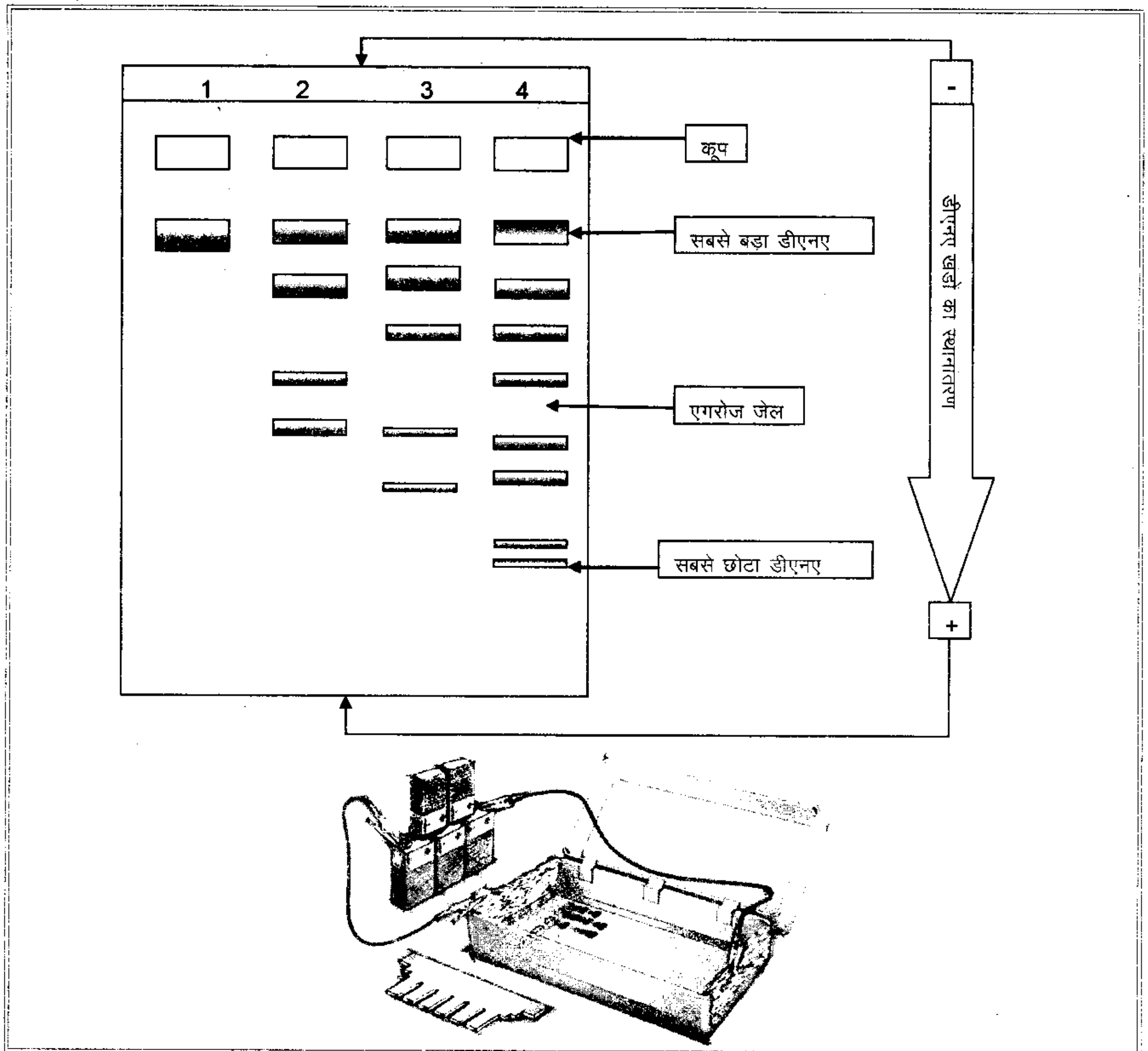


चित्र 11.2 : पुनर्योगज डीएनए तकनीक का आरेखीय चित्र

DNA खंड का पृथक्करण एवं विलगन–

- प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लिएज एंजाइम द्वारा DNA को छोटे-छोटे खंडों में विभाजित किया जाता है।
- इन टुकड़ों को इलेक्ट्रोफोरेसिस तकनीक द्वारा अलग किया जा सकता है।
- DNA के इन ऋणावेशित टुकड़ों को एनोड की तरफ भेज कर अलग कर सकते हैं।
- इस प्रक्रिया में ऐगारोज माध्यम का उपयोग किया जाता है।
- ऐगारोज समुद्री घास से प्राकृतिक बहुलक के रूप में प्राप्त किया जाता है।
- ऐगारोज जेल के छलनी प्रभाव द्वारा DNA के टुकड़े आकार के अनुसार अलग-अलग हो जाते हैं।
- DNA के टुकड़े जितने छोटे होते हैं, वे ऐगारोज जेल पर उतने ही दूर तक जाते हैं।
- DNA के इन खंडों को देखने के लिए इथीडियम ब्रोमाइड से अभिरंजित करके पराबैंगनी विकिरणों के प्रभाव में लाया जाता है।
- अभिरंजित DNA खंड पराबैंगनी विकिरणों के प्रभाव से चमकीले नारंगी रंग की पट्टियों के रूप में दिखाई देता है।
- DNA की इन पट्टियों को काट कर अलग कर लिया जाता है तथा जैल को निष्कर्षित कर दिया जाता है, इस प्रक्रिया को क्षालन (Elution) कहते हैं।
- इस प्रकार अलग किये हुए वांछित DNA खंड को क्लोनिंग वाहक से जोड़कर पुनर्योगज DNA का निर्माण किया जाता है।

2. **लाइगेज एंजाइम (Ligase Enzyme)**— यह एंजाइम वाहक DNA एवं वांछित DNA (विदेशी DNA) खंड को जोड़ने के काम में आता है।



चित्र 11.3 - इलेक्ट्रोफोरेसिस

स्वयं हल करें

प्र.1. आनुवांशिक अभियान्त्रिकी किसे कहते हैं?

प्र.2. विजातीय DNA खंड के गुणन व प्रतिकृतियन के लिए ग्राही गुणसूत्र में किसकी उपस्थिति अनिवार्य है?

प्र.3. आण्विक कैंची किसे कहा जाता है?

प्र.4. DNA खंडों पर कौनसा आवेश होता है?

प्र.5. पृथक्कृत DNA खंडो को देखने के लिए किससे अभिरंजित किया जाता है?

प्र.6. प्रतिबंधन एन्जाइम मुख्यरूप से कितने प्रकार के होते हैं?

प्र.7. वाहक (प्लाज्मिड) में वांछित DNA खंड जोड़ने से बनने वाली रचना का नाम लिखिए।

उत्तरमाला

उ.1. जीवों में वांछित लक्षण प्रारूप प्राप्त करने के लिए आनुवांशिक पदार्थ (जीन या DNA खण्ड) को जोड़ने, हटाने या ठीक करने को आनुवांशिक अभियान्त्रिकी कहते हैं?

उ.2. प्रतिकृतियन के उद्‌गम की (यह एक विशिष्ट DNA अनुक्रम होता है)

उ.3. प्रतिबंधन एन्जाइम को। **उ.4.** ऋणावेश

उ.5. इथीडियम ब्रोमाइड से

उ.6. 1. एक्सोन्यूक्लिएज 2. एंडोन्यूक्लिएज

उ.7. पुनर्योगज DNA या संकर प्लाज्मिड

3. **पॉलीमरेज एंजाइम (Polymerase Enzyme)**— ये एंजाइम टेम्पलेट पर न्यूक्लिओटाइडों का बहुलीकरण करते हैं जिससे DNA का निर्माण होता है। DNA पॉलीमरेज एंजाइम की सहायता से पुनर्योगज DNA (संकर या काइमेरिक DNA) के गुणन द्वारा अनेक प्रतियाँ तैयार की जा सकती है। DNA की इन प्रतियों को C–DNA (Copy DNA या Complementary DNA) कहते हैं।

4. **क्लोनिंग वाहक (Cloning Vectors)**

- क्लोनिंग वाहक के रूप में मुख्यत: प्लाज्मिड एवं जीवाणुभोजी को काम में लिया जाता है।
- ये वाहक जीवाणु कोशिकाओं में स्वतन्त्र रूप से प्रतिकृतियाँ बनाने में सक्षम होते हैं।
- जीवाणुभोजी के जीनोम की जीवाणु कोशिकाओं में अनेक प्रतिकृतियाँ बन जाती है।
- कुछ प्लाज्मिड की जीवाणु कोशिका में एक या दो प्रतिकृतियाँ जबकि कुछ प्लाज्मिड की 15-100 तक प्रतिकृतियाँ बन सकती है।
- यदि विजातीय या वांछित DNA खंड को इन वाहकों से जोड़ दिया जाये तो वाहक के साथ-साथ विजातीय DNA की संख्या भी गुणित हो जाती है।
- वाहक में क्लोनिंग करने हेतु निम्नलिखित विशेषताएँ होनी चाहिए-

(i) प्रतिकृतियन का उद्‌गम (Origin of Replication)

(ii) वरणयोग्य चिह्नक (Slectable Marker)

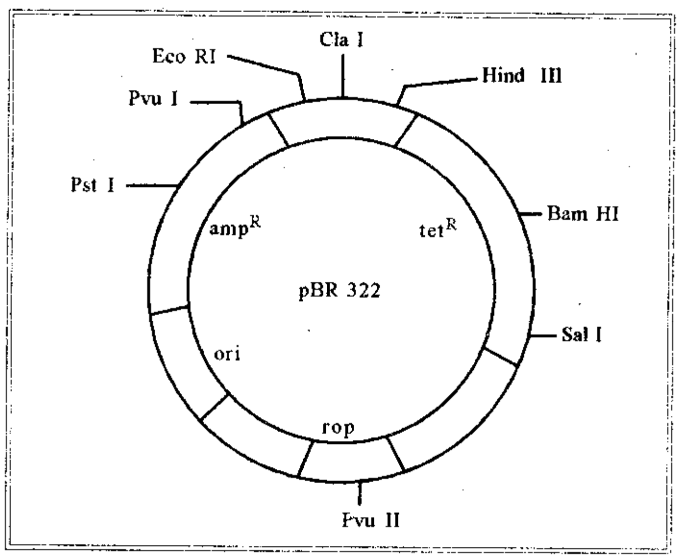
(iii) क्लोनिंग स्थल (Cloning sites)

(iv) जीन क्लोनिंग (Gene Cloning)

(i) प्रतिकृतियन का उद्‌गम (Origin of Replication)— वाहक में प्रतिकृतियन का उद्‌गम होना चाहिए। यह एक ऐसा अनुक्रम है जो प्रतिकृतियन प्रारम्भ करने के लिए आवश्यक होता है। जब कोई DNA खंड इस अनुक्रम से जुड़ जाता है तब ही उसका परपोषी कोशिका में प्रतिकृतियन संभव है। यह अनुक्रम जोड़े गए DNA के प्रतिरूपों की संख्या के नियन्त्रण के लिए भी उत्तरदायी है।

(ii) वरण योग्य चिह्नक (Selectable marker)—

- वाहक से प्रतिकृतियन के उद्‌गम (या Ori) के साथ-साथ वरण योग्य चिह्नक का भी होना आवश्यक है।
- वरण योग्य चिह्नक अरूपान्तरजो (Nontransformants) की पहचान करने पर उन्हें समाप्त करने में सहायक होते हैं।
- ये चिह्नक रूपान्तरजों (transformants) की चयनात्मक वृद्धि में भी सहायक होते हैं।
- रूपान्तरण (transformation) एक ऐसी प्रक्रिया है जिसके द्वारा DNA खंड परपोषी जीवाणु में प्रवेश करता है।
- प्राय: एंपिसिलिन, क्लोरैम्फेनिकॉल, टेट्रासाइक्लीन या कैनामाइसीन जैसे प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीनों को ई.कोलाई के लिए वरण योग्य चिह्नक माना जाता है।



चित्र 11.4 : pBR322

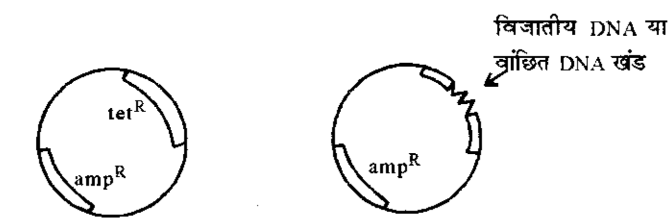
- ई. कोलाई क्लोनिंग वाहक pBR322
- प्रतिबंधन एंजाइम हेतु स्थल Hind-III, Eco RI, Bam HI, Sal I, Pvu II Pst I, Cla I
- प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन – amp R, tetR
- प्रतिकृतियन का उद्‌गम Ori

- प्लाज्मिड प्रतिकृतियन में भाग लेने वाले प्रोटीन का कोड–rop

pBR → p-Plasmid, B-Bolivar, R–Rodriguez
इसमें 4361 क्षारक युग्म होते हैं।
इसका उपयोग आण्विक क्लोनिंग में सबसे ज्यादा किया जाता है।

(iii) क्लोनिंग स्थल (Cloning sites)

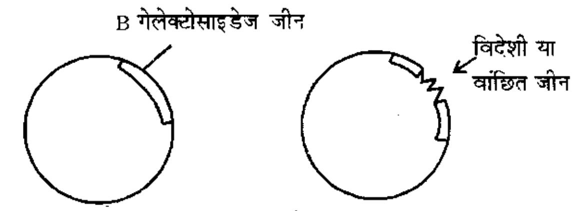
- वाहक में एक ही पहचान स्थल होना चाहिए जहाँ प्रतिबंधन एंजाइम क्रिया कर सके तथा विजातीय DNA को जोड़ा जा सके।
- एक से अधिक पहचान स्थल होने पर प्रतिबंधन एंजाइम की क्रिया द्वारा वाहक कई स्थानों पर कट जायेगा तथा जीन क्लोनिंग भी जटिल हो जायेगा।
- pBR322 नामक प्लाज्मिड में टेट्रासाइक्लीन प्रतिरोधी (tet^R) एवं एंपिसिलिन प्रतिरोधी (amp^R) जीन होते हैं।
- इनमें से एक जीन में स्थित प्रतिबंध स्थल (Restricition site) पर विजातीय DNA जोड़ा जाता है।
- यदि pBR322 में tet^R जीन के प्रतिबंधन स्थल पर कोई विजातीय DNA जोड़ा जाता है तो टेट्रासाइक्लीन के प्रति प्रतिरोध समाप्त हो जाता है।
- ऐसी पुनर्योगज प्लाज्मिड युक्त रूपान्तरजों (जीवाणुओं) को एंपिसिलिन युक्त माध्यम पर स्थानान्तरित करने पर वर्धन प्रदर्शित करते हैं।
- ये रूपान्तरज टेट्रासाइक्लीन युक्त माध्यम पर वृद्धि नहीं करते हैं क्योंकि विजातीय DNA के निवेशन से इनका टेट्रासाइक्लीन प्रतिरोधी जीन निष्क्रिय हो जाता है।



pBR 322 (अपुनर्योगज DNA) **एंपिसिलिन व टेट्रासाइक्लिन प्रतिरोधी जीन युक्त**

काइमेरिक या संकर प्लाज्मिड (पुनर्योगज DNA) **एम्पिसिलिन प्रतिरोधी जीन युक्त**

- प्रतिजैविकों के निष्क्रिय होने पर पुनर्योगजों का चयन मुश्किल हो जाता है। अत: वैकल्पिक वरण योग्य चिह्नकों का विकास हुआ।
- ये चिह्नक क्रोमोजैनिक पदार्थ की उपस्थिति में रंग उत्पन्न करने में सक्षम होते हैं।
- यदि β गैलेक्टोसाइडेज जीन युक्त प्लाज्मिड जीवाणु कोशिका में होती है तो क्रोमोजेनिक पदार्थ की उपस्थिति से नीले रंग की कोलोनी बनती है।
- पुनर्योगज प्लाज्मिड में 'निवेशी निष्क्रियता' के कारण β गलेक्टोसाइडेज निष्क्रिय होता है तथा जीवाणु कोलोनी में कोई रंग उत्पन्न नहीं होता।
- इन्हें पुनर्योगज कोलोनी के रूप में पहचाना जा सकता है।



प्लाज्मिड

पुनर्योगज या संकर प्लाज्मिड β गेलेक्टोसाइडेज जीन निष्क्रिय (निवेशी निष्क्रियता)

(iv) जीन क्लोनिंग हेतु वाहक (Vector for gene cloning)— जीन स्थानान्तरण की क्रिया प्रकृति में आदिकाल से चली आ रही है। हमने इस क्रिया को जीवाणुओं एवं विषाणुओं से ही सीखा है। इन जीवाणुओं एवं विषाणुओं द्वारा यूकेरियोटिक कोशिकाओं में जीन स्थानान्तरण किया जाता है जिससे परपोषी कोशिकाएँ जीवाणुओं व विषाणुओं के अनुरूप कार्य करने लगती है।

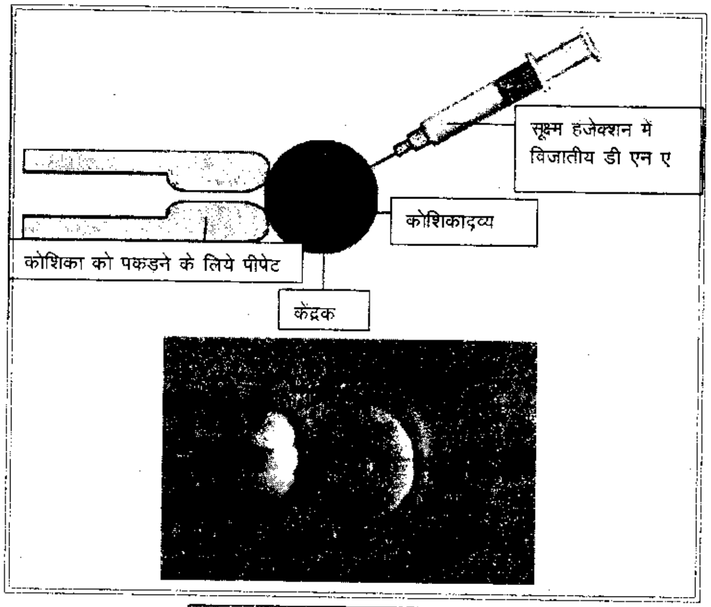
एग्रोबेक्टीरियम ट्यूमीफेसियन्स जीवाणु कई द्विबीजपत्री पादपों में रोग उत्पन्न करता है। यह जीवाणु DNA के एक खंड को सामान्य पादप कोशिका में स्थानान्तरित करके उन्हें अर्बुद (ट्यूमर) कोशिकाओं में रूपान्तरित कर देता है। ये अर्बुद कोशिकाएँ एग्रोबेक्टीरियम जीवाणु के लिए आवश्यक रसायनों का निर्माण करती है।

पश्च विषाणु (Retrovirus) सामान्य जन्तु कोशिकाओं को कैंसर कोशिकाओं में रूपान्तरित कर देते हैं। यूकेरियोटिक कोशिकाओं में रोगजनकों (जीवाणु एवं विषाणु) द्वारा जीन स्थानान्तरण की कला एवं तकनीक का उपयोग मानव ने आनुवांशिक अभियांत्रिकी के अन्तर्गत किया। इन रोगजनकों का उपयोग वांछित जीन स्थानान्तरण के लिए वाहक के रूप में किया जाता है। *एग्रोबैक्टीरियम ट्यूमिफेसियन्स* की Ti (Tumor inducing) प्लाज्मिड को क्लोनिंग वाहक (Cloning Vector) के रूप में रूपान्तरित किया गया है। अब यह रूपान्तरित प्लाज्मिड पादपों में रोग उत्पन्न नहीं करती बल्कि वांछित जीनों को विभिन्न पादपों में स्थानान्तरित करने के लिए वाहक के रूप में काम में लायी जाती है। **इसी प्रकार पश्च विषाणु (Retrovius) को निरशस्त्रीकृत (अहानिकारक) बनाकर वाहक के रूप में काम में लाया जाता है।** इनके द्वारा वांछित जीन को जन्तु कोशिकाओं में स्थानान्तरित किया जा सकता है। किसी भी जीन या DNA खण्ड को उपयुक्त वाहक के साथ जोड़कर किसी जीवाणु, पादप या जन्तु कोशिका (परपोषी) में स्थानान्तरित करके गुणन कराया जा सकता है।

5. परपोषी जीव (पुनर्योगज DNA के साथ रूपान्तरण हेतु सक्षम परपोषी होना चाहिए)- पुनर्योगज DNA को जीवाणु कोशिका (परपोषी) में प्रवेश करने से पहले जीवाणु कोशिका को पुनर्योगज DNA लेने हेतु सक्षम बनाया जाता है। इसके लिए जीवाणु कोशिका को द्विसंयोजन धनायन (जैसे Ca^{++}) की विशिष्ट सान्द्रता से संसाधित किया जाता है। इससे पुनर्योगज DNA को जीवाणु कोशिका में प्रवेश करने में सहायता मिलती है। जीवाणु कोशिका को बर्फ पर रखकर इसमें पुनर्योगज DNA को बलपूर्वक प्रवेश कराते हैं। इसके बाद कुछ समय के लिए 42°C (ताप प्रघात) पर व फिर बर्फ पर रखा जाता है।

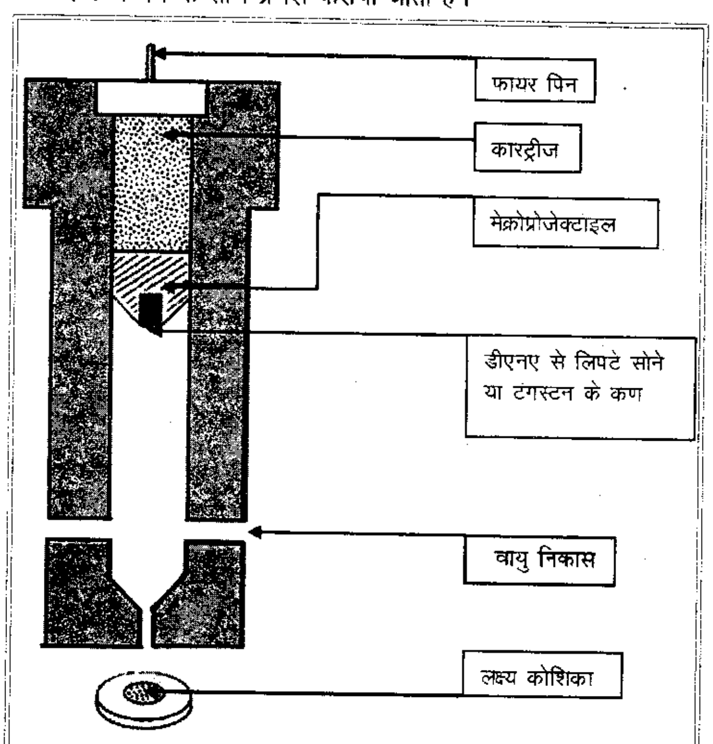
परपोषी कोशिका में विजातीय DNA को प्रवेश कराने की कई अन्य विधियाँ भी है। इनमें से कुछ प्रमुख निम्नलिखित है—

(i) **सूक्ष्म अन्तक्षेपण (Microinjection)**— इसके द्वारा पुनर्योगज DNA को सीधे ही जन्तु कोशिका के केन्द्रक में प्रवेश करा दिया जाता है।



चित्र 11.5 : सूक्ष्म अन्तःक्षेपण

(ii) **जीनगन या बायोलिस्टीक (Gene Gun or Biolistics)**— इस विधि में DNA से आवृत्त सोने या टंगस्टन के सूक्ष्म कणों को पादप कोशिका में उच्च वेग के साथ प्रवेश कराया जाता है।



चित्र 11.6 : जीन गन सूक्ष्म अन्तःक्षेपण

(iii) **निरशस्त्रीकृत रोगजनक वाहक**— निरशस्त्रीकृत रोगजनक वाहक परपोषी कोशिकाओं को रोगग्रस्त नहीं करते बल्कि विदेशी या वांछित DNA खंड को परपोषी में स्थानान्तरित करते हैं।

11.5 पुनर्योगज DNA तकनीक की प्रक्रिया

इसके प्रमुख चरण निम्नलिखित हैं—

(i) **DNA विलगन या पृथक्करण—**

- वांछित जीन या DNA वाली कोशिकाओं का चयन करके उनका लयन (lysis) किया जाता है जिससे उनका DNA (या गुणसूत्र) बाहर निकल आये।
- इसके लिए वांछित DNA युक्त कोशिकाओं को लाइसोजाइम (जीवाणु) सेल्यूलेज (पादप कोशिका) व काइटीनेज (कवक) एंजाइम से संसाधित किया जाता है।
- DNA को हिस्टोन प्रोटीन व आर. एन. ए. से अलग करने के लिए प्रोटीएज व राइबोन्यूक्लिएज से उपचारित किया जाता है।
- शोधित DNA को अवक्षेपित करने के लिए द्रुतशीतित एथेनॉल मिलाया जाता है।

(ii) **DNA खंडन (या DNA को विशिष्ट स्थलों से काटना)**

- प्रतिबंधन एंजाइम को शोधित DNA अणुओं के साथ ईष्टतम परिस्थितियों में रखा जाता है।
- **प्रतिबंधन एंजाइम पाचन का नियन्त्रण** ऐगारोज जेल इलेक्ट्रोफोरेसिस द्वारा किया जाता है।
- ऋणावेशित DNA अणु धनावेशित इलेक्ट्रोड (एनोड) की ओर गतिमान होते हैं।
- उपर्युक्त प्रक्रिया वाहक DNA के साथ भी सम्पन्न की जाती है।
- स्रोत DNA व वाहक DNA को एक ही विशिष्ट प्रतिबंधन एंजाइम द्वारा काटा जाता है।

(iii) **पुनर्योगज DNA का निर्माण**

- स्रोत DNA से कटे हुए वांछित DNA खंड को लाइगेज एंजाइम की सहायता से वाहक के साथ जोड़ दिया जाता है।
- वाहक एवं वांछित DNA खंड के जुड़ने से पुनर्योगज DNA का निर्माण होता है।

PCR (Polymerase Chain Reaction)— पॉलीमरेज श्रृंखला अभिक्रिया (PCR) का विकास कैरीमुलिस (Karymullis - 1985) ने किया।

- इस विधि द्वारा DNA के छोटे से टुकड़े से कुछ ही घण्टों में करोड़ों प्रतियाँ बनायी जा सकती है।
- इसमें सामान्य DNA पॉलीमरेज के स्थान पर टेक DNA पॉलीमरेज एंजाइम काम में लिया जाता है।
- टेक DNA पॉलीमरेज एंजाइम *थर्मस एक्वाटिकस (Thermus aquaticus)* नामक जीवाणु से प्राप्त किया जाता है। यह एंजाइम ताप स्थायी होता है।
- यह एंजाइम 72°C पर अत्यधिक सक्रिय रहता है तथा 90°C पर भी सक्रिय बना रहता है।
- टेक DNA पॉलीमरेज एंजाइम व उपक्रमकों (Primers) के दो समुच्चय

(sets) द्वारा वांछित जीन की अनेक प्रतिकृतियां बनायी जा सकती है।

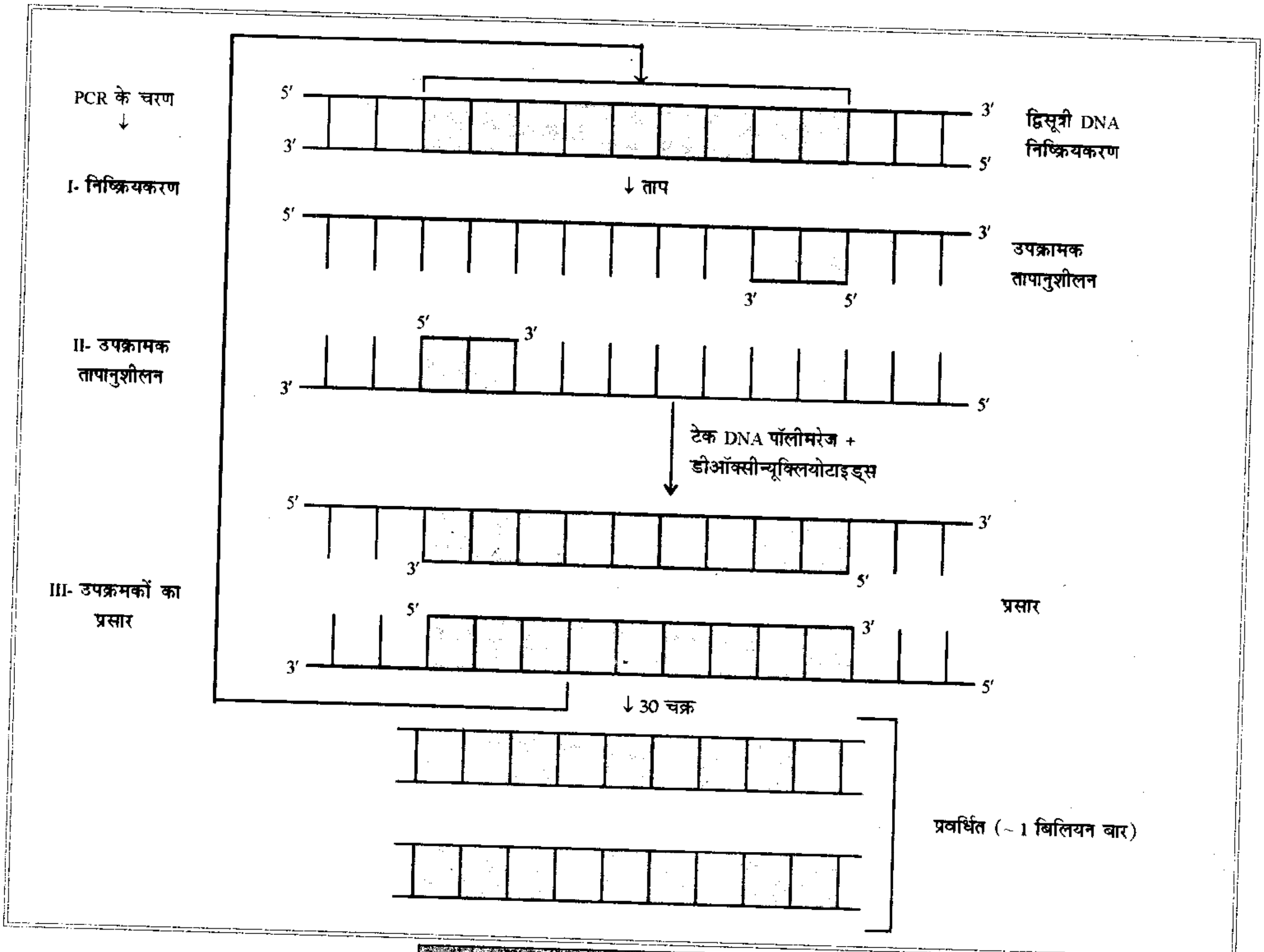
- यह पॉलीमरेज एंजाइम जिनोमिक DNA को टेम्पलेट (सांचे) के रूप में काम में लेकर एवं न्यूक्लियोटाइडो का उपयोग करके उपक्रमकों को आगे बढ़ाते हैं।
- यह प्रक्रिया बार–बार दोहराकर लगभग एक अरब DNA प्रतिरूप बनाये जा सकते हैं।

(iv) पुनर्योगज DNA का परपोषी कोशिका या जीव में स्थानान्तरण (निवेशन)—

- जब ग्राही कोशिका पुनर्योगज DNA को ग्रहण करने में सक्षम हो जाती है। तो किसी भी उपयुक्त विधि द्वारा ग्राही या परपोषी कोशिका में DNA प्रवेश कराया जाता है।
- यदि एंपिसिलिन प्रतिरोधी जीन युक्त पुनर्योगज DNA को ई. कोलाई जीवाणु कोशिका में प्रवेश करवा दिया जाता है तो ये कोशिकाएँ भी एंपिसिलिन प्रतिरोधी हो जाती है।
- इन कोशिकाओं को एंपिसिलिन युक्त एगार प्लेट पर फैलाया जाता है तो रूपान्तरित कोशिकाएँ वृद्धि करती है तथा अरुपान्तरित कोशिकाओं की मृत्यु हो जाती है।
- रूपान्तरित कोशिकाओं (एंपिसिलिन प्रतिरोधी) का चयन किया जा सकता है। यहाँ एंपिसिलिन प्रतिरोधी जीन को वरण योग्य चिह्नक (Selectable marker) कहते हैं।

(v) परपोषी कोशिकाओं का माध्यम में व्यापक पैमाने पर संवर्धन (या बाहरी जीन उत्पाद प्राप्त करना)—

- पुनर्योगज DNA में उपस्थित बाहरी जीन उपयुक्त परिस्थितियों में उत्पाद निर्माण के रूप में अभिव्यक्त होता है।
- यदि कोई प्रोटीन कूटलेखन (Encoding) जीन किसी विषमजात परपोषी में अभिव्यक्त होता है तो इसे **पुनर्योगज प्रोटीन** कहते हैं।
- वांछित जीन युक्त परपोषी कोशिकाओं का छोटे पैमाने पर प्रयोगशाला में संवर्धन किया जा सकता है।
- इस संवर्धन से विभिन्न तकनीकों द्वारा प्रोटीन का निष्कर्षण व शोधन किया जाता है।

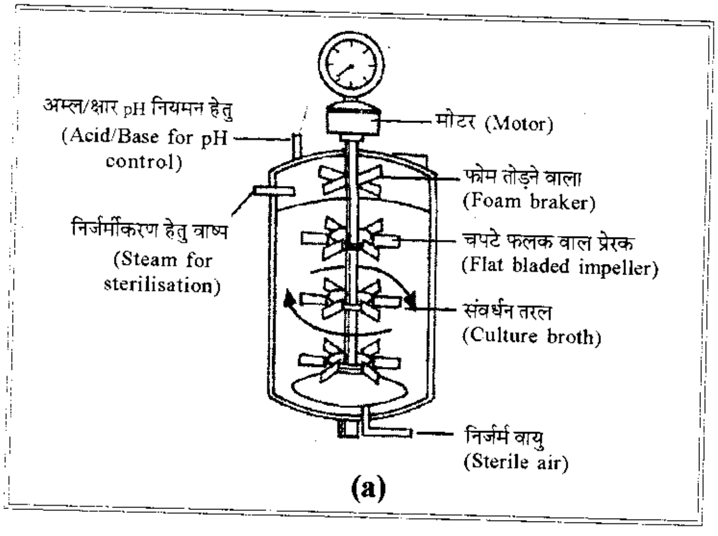


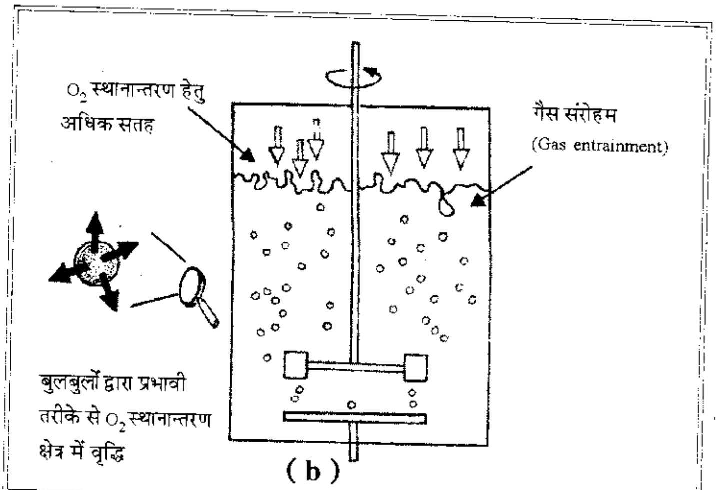
चित्र 31.7 : पॉलीमरेज शृंखला अभिक्रिया (PCR)

- कोशिकाओं के सतत संवर्धन के लिए पुराने पोषक माध्यम को निकालने व ताजा पोषक माध्यम को डालने की व्यवस्था की जाती है।
- इससे कोशिकाओं की सक्रियता व संख्या अधिकतम बनी रहती है तथा वांछित प्रोटीन (उत्पाद) भी अधिकतम प्राप्त होता है।
- व्यावसायिक दृष्टि से अधिक उत्पादन के लिए बायोरिएक्टर का उपयोग किया जाता है।
- बायोरिएक्टर द्वारा 100–1000 लीटर तक संवर्धन का संशोधन किया जा सकता है।
- बायोरिएक्टर एक बड़े पात्र के समान होता है जिसमें सूक्ष्मजीवों, पादप, जन्तु या मानव कोशिकाओं की सहायता से कच्चे पदार्थ को जैविक रूप से विशिष्ट उत्पादों एवं व्यष्टि एंजाइमों आदि में परिवर्तित किया जा सकता है।
- बायोरिएक्टर वांछित उत्पाद प्राप्त करने के लिए इष्टतम (अनुकूलतम) परिस्थितियाँ (ताप, pH, आधारी पदार्थ, लवण, विटामिन व O_2 आदि) उपलब्ध कराता है।
- विलोडन बायोरिएक्टर सबसे ज्यादा काम में आने वाला बायोरिएक्टर है।

विलोडित हौज बायोरिएक्टर

- यह बेलनाकार एवं घुमावदार आधार वाला होता है।
- इसमें अन्तर्वस्तुओं को मिश्रित करने की व्यवस्था होती है।
- इसका विलोडक मिश्रण को समरूप बनाता है तथा O_2 को समान रूप से वितरित करता है।
- थोड़े-थोड़े समय बाद रिएक्टर में बुलबुलों के रूप में हवा प्रवेश करवायी जाती है।
- इस रिएक्टर में प्रक्षोभक यन्त्र (Agitator system), O_2 प्रदाय तन्त्र (O_2 delivery system), झाग नियन्त्रण तन्त्र (Foam control system) ताप नियन्त्रण तन्त्र (Temperature control system), pH नियन्त्रण तन्त्र (pH Control system) एवं प्रतिचयन प्रद्वार लगा होता है।
- प्रतिचयन प्रद्वार द्वारा संवर्धन की थोड़ी-थोड़ी मात्रा समय-समय पर निकाली जाती है।





चित्र 11.8 (a) साधारण विलोडन हौज बायोरिएक्टर (b) दण्ड विलोडक हौज बायोरिएक्टर

(vi) वांछित उत्पाद का निष्कर्षण (या अनुप्रवाह संसाधन)

- संवर्धन द्वारा जैव संश्लेषण पूरा होने पर वांछित उत्पादों का पृथक्करण एवं शुद्धिकरण किया जाता है, इसे सामूहिक रूप से **अनुप्रवाह संसाधन** कहा जाता है।
- वांछित उत्पाद को परिरक्षक द्वारा संरूपित किया जाता है।
- उत्पाद औषधिय महत्व का होने पर उसका चिकित्सकीय परीक्षण किया जाता है।
- प्रत्येक उत्पाद के लिये गुणवत्ता नियन्त्रण के लिए भिन्न-भिन्न परीक्षण किए जाते हैं।

स्वयं हल करें

प्र.1. पुनर्योगज DNA के गुणन द्वारा प्राप्त प्रतियों को किस नाम से जाना जाता है?

प्र.2. आण्विक क्लोनिंग में सबसे ज्यादा किस वाहक का उपयोग किया जाता है?

प्र.3. जीवाणु कोशिका को पुनर्योगज DNA लेने हेतु कैसे सक्षम बनाया जाता है?

प्र.4. कौनसी विधि के अन्तर्गत DNA से आवृत सोने या टंगस्टन के सूक्ष्म कणों को पादप कोशिका में उच्च वेग के साथ प्रवेश कराया जाता है?

प्र.5. PCR का विकास किसने किया?

प्र.6. टेक DNA पॉलीमेरज एंजाइम किससे प्राप्त होता है?

प्र.7. यदि कोई प्रोटीन कूटलेखन जीन किसी विषमजात परपोषी में अभिव्यक्त होता है तो इसे क्या कहा जाता है?

प्र.8. रूपान्तरजों को अरूपान्तरजों से विभेदित करने वाले जीन क्या कहलाते हैं?

प्र.9. यूकेरियोटिक कोशिकाओं में प्रतिबंधन एंजाइम क्यों नहीं मिलते?

प्र.10. निवेशी निष्क्रियता किसे कहते हैं?

उत्तरमाला

उ.1. C-DNA (Copy DNA या Complementary DNA)
उ.2. pBR-322
उ.3. जीवाणु कोशिका को द्विसंयोजन धनायन (जैसे Ca^{++}) की विशिष्ट सान्द्रता से संसाधित करके।
उ.4. जीन गन या बायोलिस्टीक विधि के अन्तर्गत
उ.5. कैरीमुलिस (1985) ने।
उ.6. *थर्मस एक्वाटिकस* नामक जीवाणु से।
उ.7. पुनर्योगज प्रोटीन। उ.8. वरण योग्य चिह्नक
उ.9. क्योंकि इनका DNA मेथायलीकृत होता है।
उ.10. प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन विजातीय DNA के निवेशन से निष्क्रिय हो जाता है तो इसे निवेशी निष्क्रियता कहते हैं।

11.6 *Point to Interest*

- जैव रसायन, सूक्ष्मजीव विज्ञान, आनुवांशिकी एवं रसायन अभियांत्रिकी के तकनीकी ज्ञान के एकात्मक सघन उपयोग को **जैव प्रौद्योगिकी** कहते हैं।
- जीवों में वांछित लक्षण प्ररूप प्राप्त करने के लिए आनुवांशिक पदार्थ को जोड़ने, हटाने या ठीक करने को **आनुवांशिक अभियांत्रिकी** कहते हैं।
- DNA का एक विशिष्ट अनुक्रम जो प्रतिकृतियन प्रारम्भ करने के लिए आवश्यक होता है, उसे **प्रतिकृतियन का उद्‌गम** कहते हैं।
- प्रतिबंधन एंजाइमों को **आण्विक कैंचिया** भी कहा जाता है।
- प्रत्येक प्रतिबंधन एंजाइम के लिए एक विशिष्ट पहचान अनुक्रम होता है। जैसे Eco RI के लिए G–A–A–T–T–C पहचान अनुक्रम होता है।
- वांछित DNA खंड को काटकर अलग करन के लिए एवं वाहक को काटने के लिए एक ही प्रतिबंधन एंजाइम को काम में लेते हैं।
- पेलिन्ड्रोम क्षेत्र में DNA के दोनों सूत्रों में क्षारकों का अनुक्रम 3' से 5' की ओर या 5' से 3' की ओर समान होता है।
- Hind - II प्रथम प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लिएज एंजाइम है।
- वाहक DNA को वांछित DNA खंड से लाइगेज एंजाइम की सहायता से जोड़ा जाता है।
- DNA की प्रतियाँ (C–DNA) DNA पॉलीमरेज एंजाइम द्वारा बनायी जाती हैं।
- आनुवांशिक अभियांत्रिक में प्लाज्मिड व जीवाणुभोजी को मुख्य रूप से वाहक के रूप में काम में लिया जाता है।
- वरणयोग्य चिह्नक अरूपान्तरजों को रूपान्तरणों से विभेदित करने व अरूपान्तरजों को नष्ट करने में सहायक होते हैं।
- रोगजनक प्लाज्मिड या जीवाणुभोजी को अरोगजनक बनाकर वाहक के रूप में उपयोग किया जाता है।
- सूक्ष्म अन्त:क्षेपण व जीनगन द्वारा भी विजातीय DNA को परपोषी कोशिका में प्रवेश कराया जा सकता है।
- वाहक से जब विजातीय DNA जुड़ जाता है तो **पुनर्योगज** DNA या संकर DNA का **निर्माण** होता है।
- PCR (Polymerase Chain Reaction) द्वारा DNA के छोटे से टुकडे से कुछ ही घंटों में करोडों प्रतियाँ बनायी जा सकती है।
- परपोषी कोशिकाओं का व्यापक पैमाने पर संवर्धन करके अधिक मात्रा में उत्पाद प्राप्त किए जा सकते हैं। इसके लिए बायोरिएक्टर का उपयोग किया जाता है।
- जैव संश्लेषण पूरा होने पर संवर्धन से वांछित उत्पादों के पृथक्करण एवं शुद्धिकरण को अनुप्रवाह संसाधन कहते हैं।
- टेक DNA पॉलीमरेज एंजाइम *थर्मस एक्वाटिकस (Thermus aquaticus)* नामक जीवाणु से अलग किया गया है।
- पश्च विषाणु (Retrovirus) सामान्यत: जन्तु कोशिकाओं को कैंसर कोशिकाओं में रूपान्तरित करता है लेकिन इसे निरशस्त्रीकृत करके वाहक के रूप में उपयोग में लाया जा सकता है।
- pBR322 (प्लाज्मिड) में एम्पिसिलिन व टेट्रासाइक्लीन प्रतिरोधी जीन होते हैं।

11.7 शब्दावली

- **एंडोन्यूक्लिएज (endonuclease)**— ये एन्जाइम DNA को बीच में से विशिष्ट स्थलों पर काटते हैं।
- **एक्सोन्यूक्लिएज (Exonuclease)**— ये एन्जाइम DNA के सिरे से न्यूक्लिओटाइटो को विशिष्ट स्थल से काटते हैं।
- **वाहक (Vector)**— वाहक आनुवांशिक अभियांत्रिकी में वांछित DNA खंड या विजातीय DNA को लक्ष्य कोशिका या जीव तक पहुँचाने का काम करते हैं।
- **जीवाणुभोजी (Bacteriophase)**— ये विषाणु होते हैं जो कि जीवाणुओं पर आक्रमण करते हैं। इनका उपयोग आनुवांशिक अभियांत्रिकी में वाहक के रूप में भी किया जाता है।
- **वरणयोग्य चिह्नक (Selectable marker)**— ये जीन होते हैं जो रूपान्तरजों व अरूपान्तरजों में भेद करने के लिए उपयागी होते हैं।
- **जैल इलेक्ट्रोफोरेसिस (Gel electrophoresis)**— इस तकनीक द्वारा DNA खंडों को उनकी लम्बाई के क्रम में अलग-अलग किया जा सकता है।
- **प्रतिकृतियन का उद्‌गम (Origin of replication या Ori)**– प्लाज्मिड या DNA में उपस्थित यह क्षेत्र (Ori) प्रतिकृतियन प्रारम्भ करता है।
- **पश्च विषाणु (Retrovirus)**— इन विषाणुओं को जन्तुओं में जीन स्थानान्तरण हेतु वाहक के रूप में काम में लिया जाता है।
- **काइमेरिक प्लाज्मिड (Chemieric plasmid)**— विजातीय DNA खंड युक्त प्लाज्मिड काइमेरिक प्लाज्मिड होती है। इसको संकर प्लाज्मिड

या पुनर्योगज DNA भी कहते हैं।

- **निवेशी निष्क्रियता**–विजातीय DNA को प्लाज्मिड या अन्य वाहक में निवेशित करने पर वाहक का कोई जीन विशेष निष्क्रिय हो जाता है तो इसे निवेशी निष्क्रियता कहते हैं।
- **निरशस्त्रीकृत रोग जनक वाहक**–जब रोजजनक वाहक अरोगजनक बन जाता है तो इसे निरशस्त्रीकृत रोजजनक वाहक कहते हैं।

11.8 N.C.E.R.T. पाठ्य पुस्तक के प्रश्न उत्तर

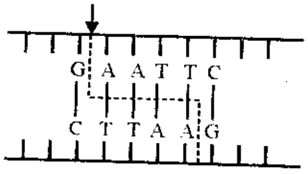
प्र.1. क्या आप दस पुनर्योगज प्रोटीन के बारे में बता सकते हैं जो चिकित्सकीय व्यवहार में काम में लाए जाते हैं? पता लगाइये कि वे चिकित्सीय औषधि के रूप में कहाँ प्रयोग किए जाते हैं।

उत्तर-

पुनर्योगज प्रोटीन	चिकित्सकीय उपयोग
1. स्कन्दन कारक VII	हिमोंफिलिया ए का उपचार
2. स्कंदन कारक IX	हिमोफिलिया बी का उपचार
3. इन्टरफेरोन -d	हिपेटाइटिस सी का उपचार
4. इन्टरफेरोन -b	हरपीस विषाणु का उपचार
5. इन्सुलिन	डाइबिटीज मेलिट्स का उपचार
6. इन्टरफेरोन -B	मल्टीपल स्क्लेरोसिस का उपचार
7. मानव पुनर्योगज वृद्धि हार्मोन	मनुष्य में वृद्धि के लिए उपयोग
8. TPA (Tisue Plaminogen activator)	मायोकार्डियल संक्रमण का उपचार
9. एन्टीथ्रोम्बिन III	रक्त स्कंदन को रोकना
10. DNAase-I	सिस्टिक फाइब्रोसिस का उपचार

प्र.2. एक सचित्र (चार्ट) (आरेखित निरूपण के साथ) बनाइए जो प्रतिबंधन एंजाइम को, (जिस क्रियाधर डीएनए पर यह कार्य करता है उसे), उन स्थलों को जहाँ यह डीएनए को काटता है व इनसे उत्पन्न उत्पाद को दर्शाता है।

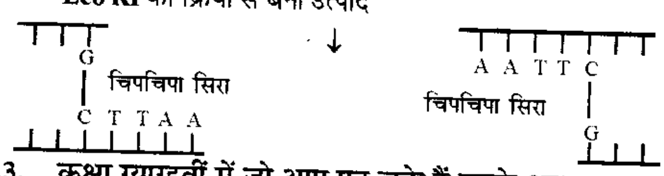
उत्तर-



वह स्थान जहाँ से Eco RI एंजाइम DNA को काटता है।

↓

Eco RI की क्रिया से बना उत्पाद



प्र.3. कक्षा ग्यारहवीं में जो आप पढ़ चुके हैं उसके आधार पर क्या आप बात सकते हैं कि आणविक आकार के आधार पर एंजाइम बड़े हैं या डीएनए। आप इसके बारे में कैसे पता लगायेंगे?

उत्तर- आण्विक आकार के आधार पर एंजाइम DNA से छोटे होते हैं क्योंकि DNA में किसी भी जीव की समस्त क्रियाओं संरचनाओं से सम्बन्धित आनुवांशिक सूचनाएं निहित होती है। दूसरी ओर एंजाइम एक प्रकार के प्रोटीन होते हैं जिनका निर्माण DNA के ही किसी जीन द्वारा होता है। DNA न्यूक्लिओटाइडों का बहुलक होता है, इसको न्यूक्लिऑटाइडों की एक बहुत लम्बी शृंखला होती है, एंजाइम में पॉलीपेप्टाइड शृंखला इतनी ज्यादा बड़ी नहीं होती। DNA सबसे बड़ा जैव अणु है। इसमें जीवों की सभी आनुवांशिक सूचनाएँ पायी जाती है।

प्र.4. मानव की कोशिका में डीएनए की मोलर सान्द्रता क्या होगी? अपने अध्यापक से परामर्श लीजिए।

उत्तर- मनुष्य की द्विगुणित कोशिका में मानव DNA की मोलर सान्द्रता
द्विगुणित कोशिका में गुणूसत्रों की कुल संख्या $\times 6.023 \times 10^{23}$
$= 46 \times 6.023 \times 10^{23}$
$= 2.77 \times 10^{18}$ मोल्स

प्र.5. क्या सुकेंद्रकी कोशिकाओं में प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लिएज मिलते हैं? अपने उत्तर सही सिद्ध कीजिए।

उत्तर- यूकेरियोटिक कोशिकाओं में प्रतिबंधन एन्डोन्यूक्लिएज एंजाइम नहीं मिलते हैं। क्योंकि यूकेरियोटिक कोशिकाओं का DNA मेथाइलीकृत होता है।

प्रतिबंधन एंजाइम प्रोकेरियोटिक कोशिकाओं में ही पाये जाते हैं जहाँ ये आक्रमणकारी विषाणुओं से रक्षा का काम करते हैं।

प्र.6. अच्छी हवा व मिश्रण विशेषता के अतिरिक्त की तुलना में कौन सी अन्य कंपन्न फलास्क सुविधाएँ हैं?

उत्तर- विलोडन हॉज बायोरिएक्ट में कम्पन फ्लास्क की तुलना निम्नलिखित अतिरिक्त विशेषताएं हैं—

1. विलोडन हौज बायोरिएक्टर द्वारा व्यापक पैमाने पर व्यावसायिक जैव प्रौद्योगिक उत्पाद प्राप्त किए जा सकते हैं जबकि कम्पन फ्लास्क से प्रयोगशाला में थोड़ी मात्रा में ही उत्पाद प्राप्त हो पाते हैं।
2. विलोडन हौज बायोरिएक्टर में ताप नियन्त्रण तन्त्र, pH नियन्त्रण तन्त्र एवं झाग नियन्त्रण जैसी विशेषताएँ होती है।
3. इसमें प्रतिचयन द्वारा संवर्धन की थोड़ी-थोड़ी मात्रा को समय-समय पर निकाला जा सकता है।

प्र.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।

उत्तर- पेलिन्ड्रोमिक अनुक्रम में DNA के दोनों सूत्रों में क्षारकों का अनुक्रम 5'→ 3' दिशा में दोनों तरफ समान रहता है।

(i) 5'–GAATTC–3'
| | | | | |
3'–CTTAAG–5'

(ii) 5'–GGATCC–3'
| | | | | |
3'–CCTAGG–5'

(iii) 5'–AGGCCT–3'
| | | | | |
3'–TCCGGA–5'

(iv) 5'–AGCT–3'
| | | |
3'–TCGA–5'

(v) 5'–TCGA–3'
| | | |
3'–AGCT–5'

प्र.8. अर्धसूत्री विभाजन को ध्यान में रखते हुए क्या बता सकते हैं कि पुनर्योगज डीएनए किस अवस्था में बनते हैं?

उत्तर- अर्द्धसूत्री विभाजन-I की पेकाइटीन अवस्था में। इस अवस्था में क्रॉसिंग ऑवर की घटना होती है जिसमें नॉन सिस्टर क्रोमेटिड्स के कुछ खंडों का आदान प्रदान होता है।

प्र.9. क्या आप बता सकते हैं कि प्रतिवेदक (रिपोर्टर) एंजाइम को वरणयोग्य चिह्नक की उपस्थिति में बाहरी डीएनए को परपोषी कोशिकाओं में स्थानान्तरण के लिए मॉनिटर करने के लिए किस प्रकार उपयोग में लाया जा सकता है?

उत्तर- वरणयोग्य चिह्नक (Selectable marker) की तरह प्रतिवेदक जीन द्वारा भी बाहरी DNA के परपोषी कोशिका में स्थानान्तरण का पता लगाया जा सकता है। विदेशी जीन के साथ रिपोर्टर जीन भी वाहक DNA के साथ जुड़ा हो तो विदेशी जीन के परपोषी कोशिका में पहुँचने की सूचना रिपोर्टर जीन द्वारा मिल सकती है। जैलीफिश में हरे प्रदीप्त प्रोटीन को कूटित करने वाला लेक जेड जीन एक प्रतिवेदक जीन का ही उदाहरण है।

प्र.10. निम्नलिखितों का संक्षिप्त वर्णन कीजिए-
(i) प्रतिकृतियन का उद्‌गम (ii) बायोरिएक्टर
(iii) अनुप्रवाह संसाधन

उत्तर-(i) प्रतिकृतियन का उद्‌गम— यह एक ऐसा DNA अनुक्रम है जो प्रतिकृतियन प्रारम्भ करने के लिए आवश्यक होता है। आनुवांशिक अभियांत्रिकी में काम आने वाले वाहक में प्रतिकृतियन का उद्‌गम होना आवश्यक है। जब कोई DNA खंड इस प्रतिकृतियन के उद्‌गम से जुड़ता है तो ही उसका प्रतिकृतियन संभव है।

(ii) बायोरिएक्टर— इसमें सूक्ष्मजीवों, पादप, जन्तु या मानव कोशिकाओं की सहातया से कच्चे पदार्थ को जैविक रूप से विशिष्ट उत्पादों एवं व्यष्टि एंजाइमों आदि में परिवर्तित किया जाता है।

- बायोरिएक्टर द्वारा अधिकतम वांछित उत्पाद प्राप्त करने के लिए अनुकूलतम परिस्थितियाँ उत्पन्न की जाती है।
- विलोडन रिएक्टर सबसे ज्यादा काम में आने वाला बायोरिएक्टर है।

(iii) अनुप्रवाह संसाधन— संवर्धन द्वारा जैव संश्लेषण पूरा होने पर वांछित उत्पादों का पृथक्करण एवं शुद्धिकरण किया जाता है, इसे सामूहिक रूप से अनुप्रवाह संसाधन कहा जाता है। इसके द्वारा वांछित उत्पादों का निष्कर्षण किया जाता है।

प्र.11. संक्षेप में बताइए।
(क) पीसीआर
(ख) प्रतिबंधन एंजाइम और डीएनए
(ग) काइटिनेज।

उत्तर- (क) PCR – पॉलीमरेज श्रृंखला अभिक्रिया (PCR) के अन्तर्गत टेक DNA पॉलीमरेज एंजाइम की सहायता से DNA के छोटे से खंड से कुछ ही घंटों में करोड़ों प्रतियाँ बनायी जा सकती है।

(ख) प्रतिबंधन एंजाइम व DNA— प्रतिबंधन एंजाइम मूलत: प्राकेरियोटिक जीवों में पाये जाते हैं। इनका उपयोग आनुवांशिक अभियांत्रिका में DNA को विशिष्ट स्थानों से काटने के लिए होता है। वाहक एवं वांछित DNA को एक ही प्रतिबंधन एंजाइम से काटा जाता है।

(ग) काइटिनेज— इस एंजाइम की सहायता से कवक कोशिकाओं को संसाधित करके उनका लयन किया जा सकता है। इससे इन कोशिकाओं का DNA बाहर आ जाता है। इस DNA को प्रतिबंधन एंजाइम द्वारा काट कर वांछित DNA खंड अलग कर लिया जाता है।

प्र.12. अपने अध्यापक से चर्चा करके पता लगाइए कि निम्नलिखित के बीच कैसे भेद करेंगे-
(i) प्लाज्मिड DNA व गुणसूत्रीय DNA
(ii) RNA & DNA
(iii) एक्सोन्यूक्लिएज व एंडोन्यूक्लिएज

उत्तर- (i) प्लाज्मिड DNA व गुणसूत्रीय DNA

	प्लाज्मिड DNA	गुणसूत्रीय DNA
(क)	ये प्राय: वृत्ताकार एवं आकार (1.5 – 1500 kb) में अपेक्षाकृत छोटी होती है।	इनका आकार अपेक्षाकृत काफी बड़ा होता है।
(ख)	इन्हें वाहक के रूप में काम में लाया जाता है।	इन्हें वाहक के रूप में काम में नहीं लिया जाता।
(ग)	ये अतिरिक्त गुणसूत्रीय रचनाएँ होती है।	यह मुख्य गुणसूत्री रचना है।

(ii) RNA व DNA में अन्तर

	RNA	DNA
1.	प्राय: एकसूत्रीय	प्राय: द्विसूत्रीय
2.	पेन्टोज शर्करा–राइबोज	डीऑक्सी राइबोज
3.	नाइट्रोजनी क्षारक–एडीनिन ग्वानिन यूरेसिल, साइटोसिन	एडीनिन, ग्वानिन, थाइमिन सायटोसिन
4.	आकार छोटा	आकार बड़ा

(iii) एक्सोन्यूक्लिएज व एंडो न्यूक्लिएज में अन्तर

	एक्सोन्यूक्लिएज	एंडोन्यूक्लिएज
1.	यह DNA के सिरे से न्यूक्लिओटाइडो को काटता है।	यह DNA को बीच में से विशिष्ट स्थानों पर काटता है।

11.9 अन्य महत्वपूर्ण प्रश्न

प्र.1. pBR322 क्या है?

उत्तर- यह एक प्लाज्मिड है जिसका उपयोग आण्विक क्लोनिंग में सर्वाधिक होता है।

प्र.2. जैव प्रौद्योगिक किसे कहते हैं?

उत्तर- सूक्ष्मजीवों, जंतु एवं पादप कोशिकाओं या उनके अवयवों के नियंत्रित उपयोग से मानव के लिए उपयोगी उत्पादों या सेवाओं के उत्पादन को जैव प्रौद्योगिकी कहते हैं।

प्र.3. आनुवांशिक अभियांत्रिकी किसे कहते हैं?

उत्तर- आनुवांशिक पदार्थ को जोड़ने, हटाने या ठीक करने की मानव उपयोगी तकनीक को आनुवांशिक अभियांत्रिकी कहते हैं।

प्र.4. आण्विक कैंचिया या रासायनिक चाकू किसे कहा जाता है?

उत्तर- प्रतिबंधन एन्जाइम को।

प्र.5. प्रतिबंधन एंजाइमों के उदाहरण लिखिए।

उत्तर- Eco RI, Hind- II, Hind- III, Sal I, Bam HI

प्र.6. काइमेरिक प्लाज्मिड से आप क्या समझते हैं?

उत्तर- जब किसी प्लाज्मिड (वाहक) में कोई विजातीय DNA खंड जुड़ जाता है तो इस प्रकार बनी संरचना को काइमेरिक प्लाज्मिड कहते हैं।

प्र.7. Eco RI एंजाइम में Eco शब्द की उत्पत्ति कैसे की गई है?

उत्तर- यह एंजाइम Escherichia coli नामक जीवाणु से प्राप्त हुआ है। Eco शब्द में E अक्षर Escherichia से एवं co कोलाई से लिया गया है।

प्र.8. वाहक DNA से वांछित DNA खंड जोड़ने के लिए कौनसा एंजाइम काम आता है?

उत्तर- लाइगेज एंजाइम।

प्र.9. टेक DNA पॉलीमरेज एंजाइम किस तापमान पर अत्यधिक सक्रिय रहता है।

उत्तर- 72°C

प्र.11. वह कौनसी विधि है जिससे DNA के एक छोटे से टुकडे से कुछ ही घंटों में करोड़ों प्रतियाँ बनायी जा सकती है?

उत्तर- पॉलीमरेज शृंखला अभिक्रिया (Polymerase Chain Reaction PCR)

प्र.12. बायोरिएक्टर का महत्व लिखिए।

उत्तर- इसके द्वारा बड़े पैमाने पर परपोषी कोशिकाओं का संवर्धन करके व्यावसायिक दृष्टि से अधिक वांछित उत्पद प्राप्त किये जा सकते हैं।

प्र.13. जीनगन द्वारा किस धातु से बने सूक्ष्म कणों पर DNA लपेट कर परपोषी कोशिका में प्रवेश कराया जाता है।

उत्तर- सोना या टंगस्टन।

प्र.14. pBR322 में कौनसे प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन होते हैं?

उत्तर- एंपिसिलिन एवं टेट्रासाइक्लिन प्रतिरोधी जीन।

प्र.15. प्रतिकृतियन का उद्गम (ori) क्या है?

उत्तर- यह DNA का एक विशिष्ट अनुक्रम है जो प्रतिकृतियन प्रारम्भ करने के लिए आवश्यक होता है।

प्र.16. निम्नलिखित का शब्द विस्तार लिखिए-

(i) GMO **(ii) E.F.B.** **(iii) PCR**
(iv) PBR **(v) E.Coli**

उत्तर- (i) GMO – Genetically modified organism
(ii) E.F.B. – The European Federatin of Biotechnology
(iii) PCR – Polymerase chain Reaction
(iv) pBR – Plasmid Bolivar, Rodriguez
(v) E. Coli – Escherichia coli

11.10 वस्तुनिष्ठ प्रश्न (Objective Questions)

1. लक्ष्य ऊतक (Target tissue) में ट्रॉसजीन की ट्रॉसजेनिक अभिव्यक्ति निर्धारित होती है **[CBSE PMT 2004]**
(a) प्रमोटर द्वारा (b) रिपोर्टर द्वारा
(c) [illegible] (d) [illegible]

2. रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम की खोज की **[MP PMT 1989]**
(a) बर्ग ने (b) स्मिथ तथा नॉर्थ ने
(c) वैक्समेन ने (d) अलेक्जेन्डर फ्लैमिंग ने

3. आनुवांशिक पदार्थ पृथक करने के लिए एन्जाइम का उपयोग किया जाता है **[AFMC 2004]**
(a) लाइगेज (b) रेस्ट्रिक्शन एण्डोन्यूक्लियेज
(c) हाइड्रोलेज (d) एमाइलेज

4. निम्न में से किसके द्वारा पादपों और जंतुओं को इच्छित (desired) लक्षणों के साथ प्रजनन करना संभव है **[KCET 1994]**
(a) आनुवांशिक इंजीनियरिंग द्वारा
(b) गुणसूत्र इंजीनियरिंग द्वारा
(c) आइकेबाना विधि द्वारा
(d) ऊत्तक संवर्धन द्वारा

5. आनुवांशिक अभियांत्रिकी में प्रयोग होने वाले दो महत्वपूर्ण बैक्टीरिया हैं **[CBSE PMT 1998, 2000, 06]**
(a) *नाइट्रोसोमोनास एवं कैलिबसिल्ला*
(b) *इश्चीरिकिया एवं एग्रोबैक्टीरियम*
(c) *नाइट्रोबैक्टर एवं एजेटोबैक्टर*
(d) *राइजोबियम एवं डिप्लोकोकस*

6. आनुवांशिकी अभियांत्रिकी में "मौलीक्युलर सीजर" (आण्विक कैंची) की तरह उपयोग किया जाता है **[KCET 2000; WB JEE 2009]**
(a) हेलिकेज (b) DNA लाइगेज
(c) DNA पॉलीमरेज (d) रेस्ट्रिक्शन एण्डोन्यूक्लियेज

7. रेस्ट्रिक्शन एण्डोन्यूक्लियेज एन्जाइम का प्रमुख कार्य है **[CBSE PMT 2000, 06]**
(a) RNA स्ट्रेण्ड को काटता है
(b) डबल स्ट्रेण्डेड DNA को काटता है
(c) DNA के स्ट्रेण्डस को जोड़ता है
(d) सिंगल स्ट्रेण्डेड DNA को काटता है

8. आनुवांशिक अभियांत्रिकी में निम्नलिखित में से किसकी आवश्यकता होती है **[AIIMS 2001]**
(a) DNA पॉलीमरेज (b) RNA पॉलीमरेज
(c) प्लाज्मिड (d) राइबोसोम

उत्तरमाला

1. (b)	2. (b)	3. (b)	4. (a)	5. (b)
6. (d)	7. (b)	8. (c)		

Solutions

1. (b) रेस्ट्रिक्शन एन्डोन्यूक्लियेज स्मिथ तथा नॉर्थ के द्वारा खोजा गया। इसका उपयोग आनुवांशिक अभियांत्रिकी में बायोसीजर के रूप में किया जाता है।

2. (b) आज तक, पौधों की आनुवांशिक अभियांत्रिकी में अधिक महत्वपूर्ण मृदा जीवाणु (*एग्रोबैक्टीरियम ट्यूमीफेशियन्स*) का Ti प्लाज्मिड होता है।

3. (d) DNA स्ट्रेण्ड के एक विशेष भाग को काटने के लिए एक विशेष रेसट्रिक्शन एन्डोन्यूक्लियेज एन्जाइम का उपयोग करते हैं इसलिए इन एन्जाइमों को आण्विक कैंची या जीव वैज्ञानिक कैंची कहते हैं।