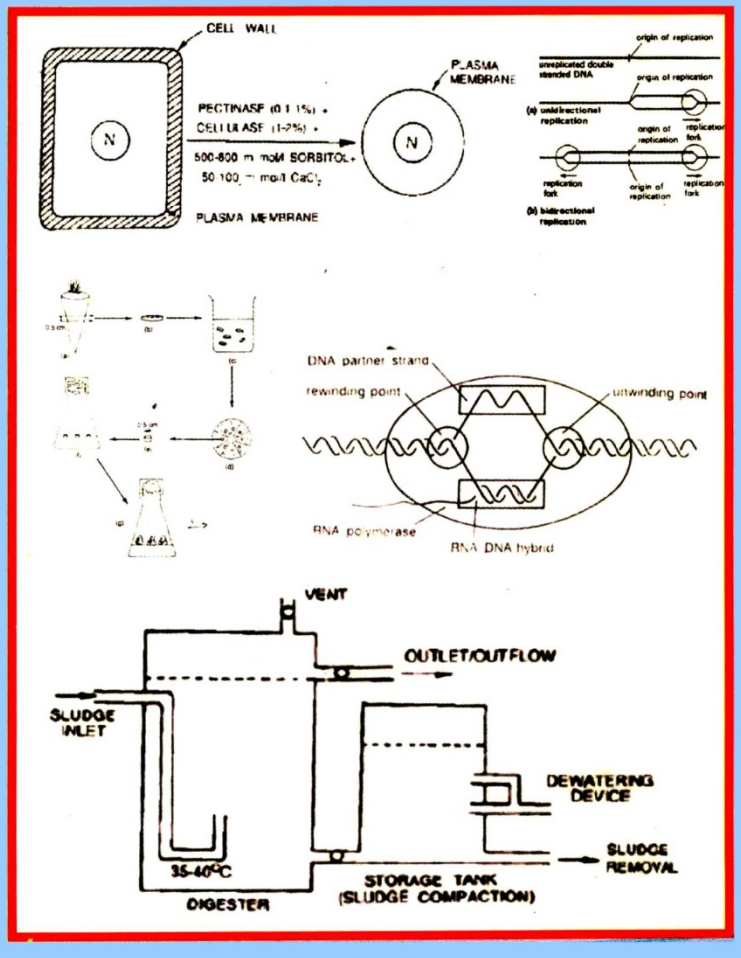
BO-10

वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय, कोटा



आण्विक जीव विज्ञान एवं तकनीक

BO - 10

वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय, कोटा

आण्विक जीव विज्ञान एवं तकनीक

पाठ्यक्रम अभिकल्प समिति

अध्यक्ष

प्रो. (डॉ.) नरेश दाधीच

कुलपति

वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय, कोटा

संयोजक/ समन्वयक एवं सदस्य

विषय समन्वयक

प्रो.(डॉ.) पी.सी. त्रिवेदी

वनस्पति शास्त्र विभाग

राजस्थान विश्वविद्यालय, जयपुर

सदस्य सचिव / समन्वयक

डॉ. अनुराधा शर्मा

सहायक आचार्या, वनस्पति शास्त्र

वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय, कोटा

सदस्य

1. **प्रो. एस.वी.एस. चौहान**
   वनस्पति शास्त्र विभाग
   बी.आर.अम्बेडकर विश्वविद्यालय, आगरा
2. **प्रो. एन. सी. ऐरी**
   विभागाध्यक्ष, वनस्पति शास्त्र विभाग
   एम.एल.सुखड़िया विश्वविद्यालय, उदयपुर
3. **प्रो. एस.के. माहना**
   विभागाध्यक्ष, वनस्पति शास्त्र विभाग
   महर्षि दयानन्द सरस्वती विश्वविद्यालय,अजमेर
4. **प्रो. त्रिभुवन सिंह**
   वनस्पति शास्त्र विभाग
   राजस्थान विश्वविद्यालय, जयपुर
5. **डॉ. डी. के. अरोड़ा**
   वनस्पति शास्त्र विभाग
   राजस्थान विश्वविद्यालय, जयपुर
6. **डॉ. श्रीमती प्रमिला शर्मा**
   जैव प्रौद्योगिकी विभाग
   महर्षि अरविन्द कॉलेज,मानसरोवर, जयपुर
7. **डॉ. आर. एस. धनखड़**
   वनस्पति शास्त्र विभाग
   राजकीय महाविद्यालय, सीकर

सम्पादन एवं पाठ लेखन

सम्पादक

डॉ. पुष्पा श्रीवास्तवा

वनस्पति शास्त्र

राजस्थान विश्वविद्यालय, जयपुर

लेखक

1. **डॉ. जी. पी. सिंह**
   वनस्पति शास्त्र
   राजस्थान विश्वविद्यालय, जयपुर
2. **डॉ. रामवतार शर्मा**
   वनस्पति शास्त्र
   राजस्थान विश्वविद्यालय, जयपुर
3. **डॉ. रेखा विजयवर्गीय**
   वनस्पति शास्त्र
   राजस्थान विश्वविद्यालय, जयपुर
4. **आरती शर्मा**
   जैव प्रौद्योगिकी विभाग
   लार्ड बुद्ध महाविद्यालय, कोटा
5. **डॉ. दिलीप राठौर**
   वनस्पति शास्त्र विभाग
   राजकीय महाविद्यालय, बून्दी
6. **डॉ. अपर्णा पारीक**
   वनस्पति शास्त्र विभाग
   राजकीय महाविद्यालय, कालाखेड़ा,जयपुर
7. **डॉ. अनुराधा शर्मा**
   जैव प्रौद्योगिकी विभाग
   एम. आई. एम. टी., कोटा
8. **प्रो. एल. के. पारीक**
   सेवानिवृत्त प्रोफेसर
   राजस्थान विश्वविद्यालय, जयपुर

अकादमिक एवं प्रशासनिक व्यवस्था

प्रो. (डॉ.)नरेश दाधीच	**प्रो. अनाम जेटली**	**योगेन्द्र गोयल**
कुलपति	निदेशक,**संकाय विभाग**	प्रभारी अधिकारी
वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय कोटा	**वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय कोटा**	**वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय कोटा**

पाठ्यक्रम उत्पादन

योगेन्द्र गोयल

सहायक उत्पादन अधिकारी

वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय

कोटा

उत्पादन सितम्बर 2009 ISBN- 13/978-81-8496-128-7

सर्वाधिकार सुरक्षित : इस सामग्री के किसी भी अंश की वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय, कोटा की लिखित अनुमति के बिना किसी भी रूप में मिमियोग्राफी (चक्रमुद्रण) के द्वारा या अन्यत्र पुनः प्रस्तुत करने की अनुमति नहीं है।

कुलसचिव द्वारा वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय, कोटा के लिए मुद्रित एवं प्रकाशित।

वर्धमान महावीर खुला विश्वविद्यालय, कोटा

अनुक्रमणिका

आण्विक जीव विज्ञान एवं जैव तकनीक

इकाई संख्या		पृष्ठ संख्या
1.	न्यूक्लिक अम्ल आनुवांशिक पदार्थ के रूप में, डी.एन.ए.की संरचना - न्यूक्लियोसाइड्स, न्यूक्लियोटाइड्स Nucleic Acid as genetic material, structure of DNA - Nucleosides and Nucleotides	9–25
2.	डी.एन.ए. का प्रतिलिपिकरण, डी.एन.ए.पॉलीमरेज-प्रोकेरियोट्स में, आर.एन.ए. प्राइमर ओकाजाकी खण्ड, डी.एन.ए. रिपेयर Replication of DNA, DNA Polymerase-in prokaryotes,RNA Primer,Okazaki Fragments, DNA Repair	26–46
3.	राइबोज न्यूक्लिक अम्ल(आर.एन.ए.) संरचना एवं प्रकार Ribose Nucleic Acid (RNA) Structure and Types	47–61
4.	जीन, जीन संगठन, जीन कॉनसेप्ट, न्यूक्लियोसोम, आभासी जीन,विच्छिन्न जीन एवं अतिव्यापी जीन Gene, Gene Organisation, Gene Concept, Nucleosome, Pseudogene Interrupted gene &Overlapping Gene	62–73
5.	आनुवांशिक कूट Genetic Code	74–87
6.	जीन अभिव्यक्ति एवं प्रोटीन संश्लेषण की क्रियाविधि प्रोकैरियोट्स व यूकैरियोट्स में	88–107
7.	जैवतकनीक एवं पादप उत्तक संवर्धन Biotechnology and Plant Tissue Culture	108–121
8.	प्रोटोप्लास्ट संवर्धन एवं कायिक संकरण व परागकोश संवर्धन Protoplast Culture and Somatic Hybridization, Anther Culture	122–144
9.	पादप उत्तक संवर्धन के अनुप्रयोग एवं उपलब्धियाँ Plant Tissue Culture: Practical Applications and Achievements	145–152
10.	पुनर्योजन डी.एन.ए. प्रौद्योगिकी की तकनीक: रेस्ट्रीक्शन एन्जाइम, वाहक प्लाज्मिड, कोस्मीड ट्रांसपोसोन्स Recombinant DNA Technology Technique; Restriction enzyme ,vector, plasmid, cosmid, transpons	153–163

11. डी.एन.ए. एवं जीनोमिक लाइब्रेरी का निर्माण एवं स्क्रीनिंग, पुनर्योजन डी.एन.ए. तकनीक की उपलब्धियां एवं विस्तार क्षेत्र
Construction & Screening of DNA & Genomic Library, Achievements & Extends Area of Recombinant DNA Technique 164–177
12. ट्रांसजोनिक पादप एवं फल सुधार
Transgenic Plant and Crop Improvemnet 178–191
13. जैव प्रौद्योगिकी – कृषि एवं चिकित्सा
Biotechnology–Agriculture and Medicine 192–211
14. जैव प्रौद्योगिकी–पर्यावरणीय एवं औद्योगिकीय अनुप्रयोग
Bio Technology–Environment and Industrial Applications 212–232
15. जैव प्रौद्योगिकी : उल्लेखनीय उपलब्धियां एवं संभावनाएं
Bio Technology : Salient Achivements and Prospects 233–244

इकाई 1

न्यूक्लिक अम्ल आनुवांशिक पदार्थ के रूप में, डी.एन.ए. की संरचना - न्यूक्लियोसाइड्स, न्यूक्लियोटाइड्स

(Nucleic Acid as genetic material, structure of DNA - Nucleosides and Nucleotides

इकाई की रूपरेखा

1.0 उद्देश्य

1.1 प्रस्तावना

1.2 न्यूक्लिक अम्ल आनुवांशिक पदार्थ के रूप में

- 1.2.1 इतिहास
- 1.2.2 परिभाषा
- 1.2.3 न्यूक्लिक अम्ल (डी. एन. ए) के आनुवांशिक पदार्थ होने के प्रमाण
- 1.2.4 न्यूक्लिक अम्ल के प्रकार

1.3 डी.एन.ए. की संरचना

- 1.3.1 वितरण
- 1.3.2 परिमाण, आकृति, लम्बाई और आणविक भार
- 1.3.3 डी.एन.ए. का रासायनिक संगठन
- 1.3.4 डी.एन.ए. की आणविक संरचना

1.4 न्यूक्लियोसाइड्स

1.5 न्यूक्लियोटाइड्स

1.6 बोध प्रश्न

1.7 सारांश

1.8 शब्दावली

1.9 संदर्भ ग्रन्थ

1.10 बोध प्रश्नों के उत्तर

1.11 अभ्यासार्थ प्रश्न

1.0 उद्देश्य (Objective)

जीव विज्ञान की वह शाखा है जिसमें जैविक अणुओं के बीच आपस में सम्बन्ध का अध्ययन किया जाता है, उसे आण्विक जीव विज्ञान (Molecular Biology) कहते हैं । इस पाठ में न्यूक्लिक अस्त से सम्बन्धित निम्नलिखित बिन्दुओं पर चर्चा की गई है-

1. न्यूक्लिक अस्त आनुवंशिक पदार्थ के रूप में
2. डी. एन. ए. की संरचना
3. न्यूक्लियोसाइड्स
4. न्यूक्लियोटाइड्स

1.1 प्रस्तावना (Introduction)

न्यूक्लिक अम्ल का अध्ययन आण्विक जीव विज्ञान (Molecular Biology) के अन्तर्गत किया जाता है ।

न्यूक्लिक अम्ल सभी प्रोकेरियोटिक एवं यूकेरियोटिक सजीव कोशिकाओं में पाये जाने वाले उच्च अणुभार के जीव बहुलक (Bio polymers) है । केन्द्रक के रासायनिक विश्लेषण से पता चलता है कि केन्द्रक हिस्टोन रहित न्यूक्लियोप्रोटीन और न्यूक्लिक अस्त का बना होता है । अनेक न्यूक्लियोटाइड्स मिलकर न्यूक्लिक अम्ल का निर्माण करते हैं । न्यूक्लिक अम्ल जटिल कार्बोनिक अम्ल होते है ।

न्यूक्लिक अम्ल दो प्रकार के होते हैं ।

1. डीऑक्सीराइबो न्यूक्लिक अम्ल - डी. एन. ए. (D.N.A)
2. राइबो न्यूक्लिक अस्त - आर. एन. ए. (R.N.A.)

न्यूक्लिक अम्ल संग्रहण संचरण और आनुवंशिक सूचनाओं की अभिव्यक्ति में विशेष भूमिका निभाते हैं । ये सजीवों में प्रोटीन संश्लेषण के लिए भी आवश्यक है । न्यूक्लिक अम्ल का डी. एन. ए. एक आनुवंशिक पदार्थ है इस सम्बन्ध में कई प्रत्यक्ष तथा अप्रत्यक्ष प्रमाण मिलते हैं । ग्रिफिथ, हेरशे, मार्था आदि अनेक वैज्ञानिकों के सहयोग से यह सिद्ध हो चुका है कि न्यूक्लिक अम्ल (डी. एन. ए) एक आनुवंशिक पदार्थ है ।

1.2 न्यूक्लिक अन्त आनुवंशिक पदार्थ के रूप में (Nucleic Acid as genetic material)

1.2.1 इतिहास (History)

न्यूक्लिक अम्ल को सबसे पहले स्विट्जरलैण्ड के एक केमिस्ट फ्रेडरिक मीशर (Friedrich Miescher) ने 1869 में मवाद कोशिकाओं (Pus Cells) के केन्द्रक से प्राप्त किया । फ्रेडरिक ने उसे न्यूक्लिन (Nuclein) नाम दिया । न्यूक्लिन, कार्बोहाइड्रेट, प्रोटीन एवं वसा से बहुत अलग सा था । 1899 में रिचर्ड ऑल्टमन (Richard Altman) ने न्यूक्लिन पदार्थ को उसकी अम्लीय प्रकृति और केन्द्रक से विलगित किये जाने के कारण न्यूक्लिक अम्ल नाम दिया । ऑस्कर हर्टविग (Oscar Hertwig) ने 1884 में न्यूक्लिक अम्ल द्वारा आनुवंशिक लक्षणों के संचरण का महत्व बताया । 1931 में पी. ए. लेवाइन (P.A. Levine) ने न्यूक्लिक अम्ल के दो प्रकार बताए - डीऑक्सीराइबो न्यूक्लिक अम्ल (D.N.A.), राइबो न्यूक्लिक अम्ल (R.N.A) 1953 में जेम्स डी. वॉटसन फ्रांन्सिस और एच. सी. क्रिक (James D. Watson

& Francis is H.C. Crick) ने डी. एन. ए. (D.N.A) की संरचना का निदर्शन (Model) दिया । इसके लिए उन्हें 1962 में नोबल पुरुस्कार से सम्मानित किया गया । यह निदर्शन एक्स-रे क्रिस्टेलोग्राफी और डी. एन. ए. के कार्बनिक अणुओं की विशिष्टताओं पर आधारित था।

1.2.2 परिभाषा (Definition)

न्यूक्लिक अम्ल जैसा कि नाम से पता चलता है ये कोशिका के केन्द्रक में स्थित होता है पर कभी-कभी ये कोशिका द्रव्य में भी मिलता हैं । न्यूक्लिक अस्त सजीव रचनाओं के आनुवांशिक निर्धारक होते हैं । न्यूक्लिक अस्त उच्च अणुभार के जीव बहुलक (Bio polymers) होते हैं । न्यूक्लिक अस्त सजीव कोशिकाओं में स्वतन्त्र रूप से या प्रोटीन से जुड़कर न्यूक्लियो प्रोटीन बनाते हैं । न्यूक्लिक अम्ल कार्बन, हाइड्रोजन, ऑक्सीजन नाइट्रोजन तथा फास्फोरस से बने होते हैं । इसमें नाइट्रोजन 15% और फास्फोरस 10% तक होता है ।

1.2.3 न्यूक्लिक अम्ल (डी. एन. ए.) के आनुवांशिक पदार्थ होने के प्रमाण

(Evidences for Nucleic acid (D.N.A) as genetic material

(A) अप्रत्यक्ष प्रमाण (Indirect Evidences)

(1) डी. एन. ए. एक आनुवंशिक पदार्थ है । इस बात का प्रमाण मिलता है डी. एन. ए. द्वारा पराबैंगनी प्रकाश के अधिकतम अवशोषण की तरंग लम्बाई पर उत्परिवर्तन की दर अधिकतम होना इससे पता चलता है किरणन (Irradiation) के कारण रासायनिक परिर्वतन से उत्परिवर्तन होता है ।

(2) उच्चवर्गीय जीवों में डी. एन. ए. की मात्रा प्रतिकोशिका में स्थिर होती है और पोषण एवं पर्यावरण के परिवर्तन से इसकी मात्रा पर कोई प्रभाव नहीं पड़ता है । हम जानते ही हैं कि डी. एन. ए. उपापचयी रूप से अत्यधिक स्थाई होता है । ऐसा केवल आनुवंशिक पदार्थ में ही हो सकता है ।

(3) उच्चवर्गीय जीवों में कोशिका का डी. एन. ए. अधिक विस्तृत होता है । वो गुणसूत्रों में ही निहित रहता है ।

(4) डी. एन. ए. में क्षारों का संगठन विशेष होता है । ऐसा मानते हैं कि किसी भी जीव की सभी कोशिकाओं में समान जीन्स होते हैं । प्रयोगों से पता चला कि निकट सम्बन्धी जातियों के डी. एन. ए. के क्षारय-क्रम में दूरस्थ जातियों से अधिक समानता होती है ।

(B) प्रत्यक्ष प्रमाण (Direct Evidences)

आण्विक जीव विज्ञानियों (Molecular Biologists) ने डी. एन. ए. के आनुवंशिक पदार्थ होने के कुछ प्रत्यक्ष साक्ष्य दिये ।

(1) जीवाणु रूपान्तरण (Bacterial Transformation)

(2) जीवाणुभोजी से प्रमाण (Evidence from Bacteriophage)

(3) पराक्रम (Transduction)

(4) जीवाणुओं में संयुग्मन (Conjugation in Bacteria)

(1) जीवाणु रूपान्तरण-(Bacterial Transformation)

ओ एफ. ग्रिफिथ (O.F. Griffith) (1928) ने न्यूमोनिया (Pneumonia) व्याधि पर अनुसंधान करके डी. एन. ए. के आनुवंशिक पदार्थ होने के सम्बन्ध में प्रत्यक्ष साक्ष्य दिये । ग्रिफिथ ने न्यूमोनिया के जनक जीवाणु डिप्लोकॉकस न्यूमोनी (Diplococcus pneumoniae) पर खोज कर बताया कि ये जीवाणु उग्र (Virulent) तथा अनुग्र (Non-Virulent) दो प्रभेदों में पाया जाता है ।

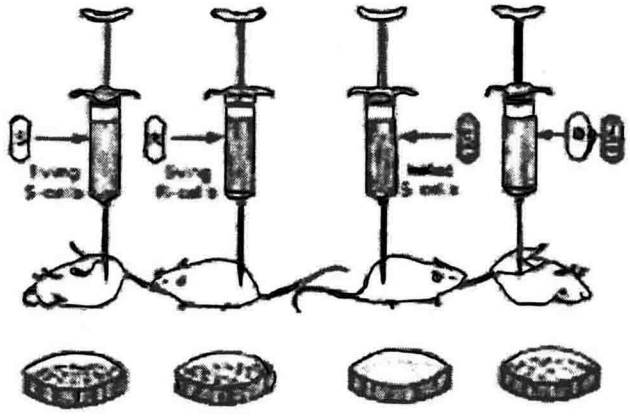


Fig. 1.1 Griffith Experiment - DNA as the gene material

उग्र प्रभेद या S-III में कोशिका के चारों ओर विशेष बहु शर्करा से बना कैचल होता है । इसकी कॉलोनी चिकनी, चमकदार होती है । यही S-III न्यूमोनिया के लिए उत्तरदायी होता है ।

दूसरा प्रभेद अनुग्र R-III होता है इसमें कैन्मूल का अभाव होता है और कॉलोनी खुरदरी, अविकसित होती है । ये अरोग कारक है ।

ग्रिफिथ ने डि. न्यूमोनी के दोनों प्रभेदों के संवर्धनों को चूहों में इंजेक्शन द्वारा प्रविष्ट कराया और निम्नलिखित अवलोकन किये ।

S-III प्रभेदों के जीवाणु को चूहे में प्रवेश कराने पर उसकी न्यूमोनिया के कारण मृत्यु हो जाती है R-II प्रभेद के जीवाणु को चूहे में प्रवेश कराने पर भी वो मरता नहीं है । उगा प्रभेद के जीवाणु को गर्म करने के बाद चूहे में प्रवेश कराने से उसकी मृत्यु नहीं होती है । S-III को अधिक गर्म कर जीवित R-II जीवाणु के साथ मिलाकर चूहे में प्रवेश कराने पर चूहा मर जाता है । मरे चूहे की जांच से पता चला कि उसके शरीर में S-III व R-II दोनों प्रभेद वाले जीवाणु मौजूद थे । ग्रिफिथ ने निष्कर्ष निकाला कि R-II प्रकार के जीवाणु मरे S-III का आनुवंशिक पदार्थ ग्रहण करके S-III प्रकार की संतति पैदा करते हैं । ग्रिफिथ उस अवयव को पहचान नहीं सका था परन्तु 1943 में एवेरी, मैकलियोड व मैकार्थी (Avery, Macleod and Maccarthy)ने D.N.A. के रूप में इसकी पहचान

(2) जीवाणुभोजी से प्रमाण (Evidence From Bacteriophage)

1950 में ए.डी. हेरशे तथा मार्था सी. चेस (A.D. Hershey and Martha C. Chase, 1950, 1952) ने (E. Col) ई. कोली जीवाणु को संक्रामित करने वाले T_2, जीवाणुभोजी के जीवन चक्र के अध्ययन रो यह प्रमाण प्रस्तुत किया कि डी.एन.ए. एक आनुवंशिक पदार्थ है । जीवाणुभोजी में एक षटकोणीय शीर्ष व पूँछ होती है । शीर्ष भाग में प्रोटीन आवरण से घिरा डी.एन.ए. होता है । हेरशे एवं चेस ने रेडियोधर्मी फास्फोरस P32, व गन्धक S35,की मदद से भोजी कणों का संश्लेषण किया तथा कुछ भोजी रेडियोधर्मी S35 युक्त जीवाणुओं पर उगाए ।

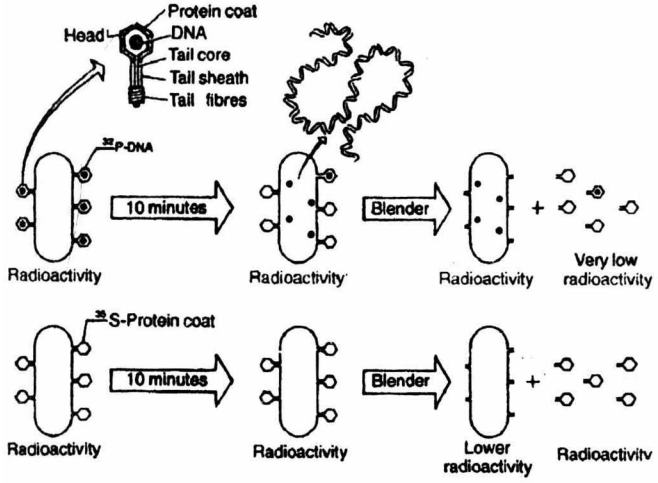


Fig 1.2 Hershey and Chase experiment

जीवाणु की प्रोटीन के अमीनों अम्ल में पहले से मौजूद रेडियोधर्मी विभोजी प्रोटीन का भी निर्माण करता है । कुछ भोजियों को P32 ,वाले जीवाणुओं पर संवर्धन किया गया । द्विगुणन में P32 जीवाणुभोजी के डी.एन.ए. का भी भाग बन गया । दो अलग-2 नमूनों में सामान्य जीवाणुओं को इन रेडियोधर्मी भोजियों से संक्रमित कराया गया । इसके 30 मिनट बाद संतति भोजी (Daughter Phages) जीवाणु की कोशिका भित्ति को तोड़ कर बाहर आ गए । इनका रेडियोधर्मी परीक्षण करने पर पता चला कि संतति में केवल P32 था । बाह्य प्रोटीन आवरण में S35 उपस्थित था इससे सिद्ध होता है कि वाइरस का आनुवंशिक पदार्थ डी.एन.ए . है ।

(3) पारक्रमण (Transduction)

यह वह क्रिया है जिसमें जीवाणुभोजी से ग्राही जीवाणु तक आनुवंशिक सूचना प्रेशित होती है । अमेरिकी आनुवंशिकविद जिंडर एवं लेडरवर्ग (Zinder & Leder Berg 1952) ने जीवाणु में इस क्रिया का पता लगाया । इस क्रिया में सूचना जीवाणु के डी.एन.ए. में समाविष्ट हो जाती है और जीवाणुभोजी डी.एन.ए. वाहक के रूप में कार्य करता है । पारक्रमण की घटना से पता चलता है कि डी.एन.ए. एक आनुवंशिक पदार्थ है ।

(4) जीवाणुओं में संयुग्मन (Conjugation in Bacteria)

वूलमैन, जैकब एवं हेज (Wollman, Jacob and Hayes 1956) ने संयुग्मन क्रिया का वर्णन किया । संयुग्मन क्रिया में दो सजीव जीवाणु, एक नर दूसरा मादा या एक दाता (Donar) दूसरा ग्राही (Recipent), आपस में जुड़कर संयुग्मन नलिका (Conjugation

Tube) को बनाते हैं । दाता "F^+" एवं ग्राही "F^-" होता है "F^+" कारक का डी.एन.ए. जीवाणु के मुख्य डी.एन.ए. से पृथक प्लाज्मिड होता है इसका स्वप्रतिकरण भी स्वतंत्र होता है स्वप्रतिकरण के बाद "F^+" जीवाणु से यह "F^-" जीवाणु में प्रवेश करता है जिससे " F^+" जीवाणु के आनुवंशिक लक्षणों में परिर्वतन आता है तथा "F^-" जीवाणु "F^+" जीवाणु में बदल जाता है ।

1.2.4 न्यूक्लिक अम्ल के प्रकार (Types of Nucleic Acid)

न्यूक्लिक अम्ल दो प्रकार के होते हैं -

1. डीऑक्सीराइबोन्यूक्लिक अम्ल (डी.एन.ए.) (D.N.A)
2. राइबोन्यूक्लिक अम्ल (आर. एन. ए) (R.N.A.)

सभी पेड़ पौधों और जानवरों में दोनों प्रकार के न्यूक्लिक अम्ल पाये जाते हैं । वाइरस में आर.एन.ए. व डी.एन. ए. दोनों एक साथ नहीं पाये जाते । मुख्यत: डी.एन.ए. केन्द्रक में उपस्थित गुणसूत्रों में पाया जाता है । इसके अलावा 2 प्रतिशत से 5 प्रतिशत मात्रा क्लोरोप्लास्ट और माइटोकोंड्रिया में मिलती है । आर.एन.ए. 90 प्रतिशत कोशिकाद्रव्य में एवं 10 प्रतिशत केन्द्रक में पाया जाता है ।

न्यूक्लिक अम्ल तीन घटकों (Components) से बने होते हैं । फास्फोरिक अम्ल, पेन्टोज शर्करा एवं नाइट्रोजन क्षारक ।

घटक	राइबोन्यूक्लिक अम्ल	डीऑक्सीराइराइबोन्यूक्लिक अम्ल
अम्ल	फास्फोरिक अम्ल	फास्फोरिक अम्ल
पेन्टोज शर्करा	डी. राइबोज	डी-2 डी ऑक्सीराइबोज
नाइट्रोजन क्षारक	एडेनिन	एडेनिन
प्यूरीन	ग्वानीन	ग्वानीन
पिरिमिडीन	साइटोसिन	साइटोसिन
	यूरेसिल	थाइमिन

1. फास्फोरिक अम्ल (Phosphoric Acid)

फास्फोरिक अम्ल का आण्विक सूत्र (Molecular Formula) H_3PO_4 है । यह एक त्रिक्षारीय अम्ल है जो तीन समतुल्य क्षार को लवण में बदल सकता है ।

2. पेन्दोज शर्करा (Pentose Sugar)

पेन्टोज शर्करा 5 कार्बन वाली शर्करा होती है । ये दो प्रकार की होती है । पहली जिसमें D-राइबोज होता है वो राइबोन्यूक्लिक अस्त में मिलती है दूसरी जिसमें D-2 डीऑक्सीराइबोज होता है वो डीऑक्सीराइबोन्यूक्लिक अम्ल में मिलती है । पेन्टोज शर्करा पयूरेनोस वलय (Furanose Ring) संरचना में पाई जाती है ।

पेन्टोज शर्करा फास्फोरिक अस्त से मिलकर ईस्टर बनाती है ये इसका एक महत्वपूर्ण गुण है । ये फास्फोडाइईस्टर बंध (Phosphodiester Band) न्यूक्लिक अम्ल की संरचना का एक अभिन्न भाग (Integral part) है ।

3. नाइट्रोजन क्षारक (Nitrogenous Base)

न्यूक्लिक अम्ल में दो प्रकार के नाइट्रोजन क्षारक मिलते हैं प्यूरीन एवं पिरिमिडीन ।

(i) प्यूरीन (Purines)

प्यूरीन में दो वलय होती हैं, एक हेक्सा वलय दूसरी पेन्टा वलय तथा कुल 9 सदस्य होते हैं । इनका अणुभार अधिक होती है । एडेनिन और ग्वानिन इसके उदाहरण हैं ।

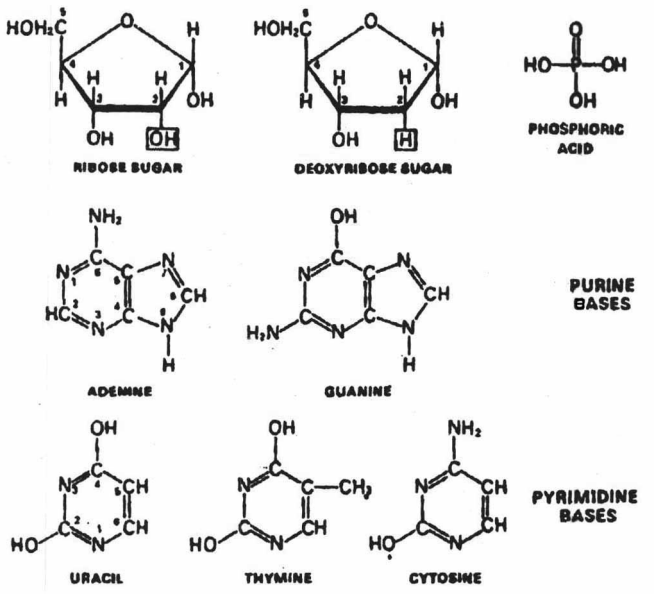


Fig 1.3 Pentose Sugars, Phosphoric Acid, Nitrogenous base

(a) एडेनिन (Adenine) - ($C_5H_5N_5$)

एडेनिन डी.एन.ए. व आर.एन.ए. दोनों में पाया जाता है । इसका अणुभार Mol. Wt. =135.15 डाल्टन होता है तथा गलनांक बिन्दु (Melting point) 360-365^0 होता है ।

(b) ग्वानिन (Guanine) - ($C_5H_5ON_5$)

ग्वानिन भी डी.एन.ए. व आर.एन.ए. दोनों में मिलता है ये रंगहीन, अघुलनशील पदार्थ होता है । इसका अणुभार Mol . Wt. =151.15 डाल्टन होता है ।

(ii) पिरिमिडीन (Pyrimidine)

पिरिमिडीन की वलय में 6 सदस्य होते हैं जिसमें दो नाइट्रोजन के परमाणु (1,3) एवं चार कार्बन के परमाणु होते हैं । साइटोसिन (Cytosine), थाइमिन (Thymine), तथा यूरेसिल (Uracil) इसमें आते हैं ।

(a) साइटोसिन (Cytosine) ($C_4H_5ON_3$)

साइटोसिन डी.एन.ए. व आर.एन.ए. दोनों में मिलता है । इसका अणुभार Mol.Wt.= 111.12 डाल्टन तथा गलनांक बिन्दु (Melting point) 320-325^0 होता है ।

(b) (Thymine) ($C_5H_6O_2N_2$)

थाइमीन केवल डी.एन.ए. में मिलता है । इसका अणुभार (Mol. Wt.)= 126.13 डाल्टन होता है ।

(c) **यूरेसिल (Uracil) - ($C_4H_4O_2N_2$)**

यूरेसिल केवल आर.एन.ए. में मिलता है । इसका अणुभार (Mol. Wt.) = 112.10 डाल्टन तथा गलनांक बिन्दु (Melting point) =338^0C होता है ।

1.3 डी.एन.ए. की संरचना (Structure of D.N.A)

1.3.1 वितरण (Distribution)

डीऑक्सीराइबोन्यूक्लिक अम्ल, न्यूक्लिक अम्ल के दो प्रकारों में से एक है । पादप विषाणुओं (Plant Viruses) के अलावा सभी जीवों में डी. एन. ए. पाया जाता है । पादप विषाणुओं में आर.एन.ए. आनुवंशिक पदार्थ होता है । विषाणुओं और जीवाणुभोजियो में एककुण्डलित (Single Coiled) डी. एन. ए. अणु, प्रोटीन आवरण से आवृत पाया जाता है । यूकेरियोटो में डी. एन. ए. प्रोटीन से मिलकर न्यूक्लियों प्रोटीन बनाता है । यूकेरियोटिक कोशिकाओं के माइटोकोन्ड्रीया, लवकों तथा जीवाणुओं में भी डी. एन. ए. वृत्ताकार (Circular) होता है परन्तु कोशिकाद्रव्य में अनावृत रूप में पाया जाता है । यूकेरियोट्स में डी. एन. ए. सूत्र लम्बे, अशाखित, सर्पिल कुण्डलीय अवस्था में होते हैं ।

1.3.2 परिमाण. आकृति. लम्बाई और आणविक भार (Size, Shape, Length, and Molecular-Weight)

डी.एन.ए. अत्यधिक लम्बे (Highly Elongated) अणु होते है । जीवाणु में 1.4 मिली मीटर, ड्रोसोफिला मेलेनोगास्टर (Drosophila melanogaster) में 2.1 सेंटी मीटर लम्बाई होती है । यूकेरियोट्स में डी.एन.ए. धागेनुमा अशाखित होते हैं । माइटोकोन्ड्रीया, क्लोरोप्लास्ट तथा प्रोकेरियोट्स में ये वृत्ताकार होता है । डी.एन.ए. की वृत्ताकार रूप के बारे में सबसे पहले जॉन केयर्नस (John Cairns 1963) ने ई. कोलाइ में बताया था ।

डी.एन.ए. की मात्रा को पीकोग्राम (Picogram) pg में मापा जाता है । [1 pg =10^{-12} g)

एक द्विकुण्डलित डी.एन.ए. का 31 cm लम्बा टुकड़ा एक पीकोग्राम के बराबर होता है । ट्रिलियम (Trillium) के DNA की लम्बाई 37.2 मीटर (3,720 cm) होती है । जो भार में 3,720/3 या 120pg DNA के समान होता है ।

डी.एन.ए. अणु अत्यधिक अणुभार का वृहद अणु होता है । सामान्यतया ये 10^6-10^9 तक मिलते है । (E.Coli) ई. कोलाई का आणविक भार 2.6x10^9,T_2, जीवाणुभोजी का 1.2X10^8 तथा वायरल डी.एन.ए. का आणविक भार 1 से 350x10^6 होता है ।

1.3.3 डी.एन.ए. का रासायनिक संगठन (केमिकल Composition Composition of DNA)

डी.एन.ए. के रासायनिक विश्लेषण से पता चलता है कि ये तीन निम्न प्रकार के यौगिकों से बना है ।

(1) शर्करा अणु - (Sugar)

डी.एन.ए. डीऑक्सीराइबोज नामक पेन्टोज शर्करा से बना होता है जिसमें एक ऑक्सीजन तथा 4 कार्बन परमाणु की एक वलय होती है । (पांचवा कार्बन परमाणु बाहर होता है ।)

(2) फास्फोरिक अश्व (Phosphoric Acid)

फास्फोरस अस्त में 3 मोनोबेलेन्ट हाइड्रोक्सिल समूह और एक डाइवेलेन्ट ऑक्सीजन परमाणु होते हैं । ये सभी पेन्टावेलेन्ट फास्फोरस परमाणु से संलग्न रहते हैं ।

(3) नाइट्रोजीनी क्षारक (Nitrogenous Bases)

न्यूक्लिक अम्ल में दो प्रकार के नाइट्रोजन क्षारक पाये जाते हैं प्यूरीन और पिरिमिडीन । प्यूरीन में दो वलय (एक हेक्सा दूसरी पेन्टा) में 9 सदस्य होते हैं । एडेनिन एवं ग्वानिन प्यूरीन श्रेणी में आते हैं । पिरिमिडिन में एक हेक्सा वलय व 6 सदस्य होते हैं । साइटोसिन तथा थाईमिन पिरिमिडिन श्रेणी में आते हैं ।

डी.एन.ए. के अणु में संयोजित रासायनिक घटकों को समझाने के लिए न्यूक्लियोसाइड और न्यूक्लियोटाइड पदों का उपयोग किया जाता है

(i) न्यूक्लियोसाइड (Nucleoside)

न्यूक्लियोसाइड वह यौगिक है जिनमें नाइट्रोजन क्षारक (प्यूरीन एवं पिरिमिडिन), पेन्टोज शर्करा हाइबोज या डीऑक्सीराइबोज) से संयुग्मित होते हैं । (इनमें β ग्लाकोसिडिक सहलग्नता होती है) इनमें फॉस्फेट समूह नहीं होता है ।

डी.एन.ए. में चार प्रकार के न्यूक्लियोसाइड होते हैं ।

(1) ऐडेनिन डीऑक्सीराइबोन्यूक्लियोसाइड या डीऑक्सीऐडीनोसिन
(Adenine Deoxyribonucleoside or Deoxyadenosine)
एडीनिन + डीऑक्सीराइबोज

(2) थाइमिन डीऑक्सीराइबोन्यूक्लियोसाइड या डीऑक्सीथाईमिडिन
(Thymine Deoxyribonucleoside or Deoxythymidine)
थाइमीन + डीऑक्सीराइबोज

(3) ग्वानिन डीऑक्सीराइबोन्यूक्लियोसाइड या डीऑक्सीग्वानोसिन
(Guanine Deoxyribonucleoside or Deoxyguanosine)
ग्वानिन+ डीऑक्सीराइबोज

(4) साइटोसिन डीऑक्सीराइबोन्यूक्लियोसाइड या डीऑक्सीसाइटिडिन
(Cytosine Deoxyribonucleoside or Deoxycytidine)
साइटोसिन + डीऑक्सीराइबोज

(ii) न्यूक्लियोटाइड (Nucleotide)

न्यूक्लियोटाइड फास्फोरिक अस्त, डीऑक्सीराइबोज शर्करा और नाइट्रोजन क्षारक के अणु के मिलने से बनते हैं । डी.एन.ए. में चार प्रकार के न्यूक्लियोटाइड पाये जाते हैं-

(1) डीऑक्सीएडीनिलिक अम्ल या डीऑक्सीएडीनोसिन मोनोफास्फेट

एडीनिन + डीऑक्सीराइबोज शर्करा + फास्फोरिक अम्ल (A+S+P)

(2) डीऑक्सीग्वानिलिक अम्ल या डीऑक्सीग्वानोसिन मोनोफास्फेट
ग्वानिन + डीऑक्सीराइबोज शर्करा + फास्फोरिक अम्ल (G+S+P)

(3) डीऑक्सीथाइमीडिलिक अम्ल या डीऑक्सीथाइमीडिन मोनोफास्फेट
थाइमीन + डीऑक्सीराइबोज शर्करा + फास्फोरिक अम्ल (T.S.P)

(4) डीऑक्सीसाइटीडिलिक अम्ल या डीऑक्सीसाइटीडिन मोनोफास्फेट
साइटोसिन + डीऑक्सीराइबोज शर्करा + फास्फोरिक अम्ल (C+S+P)

डी.एन.ए. अणु में न्यूक्लियोटाइडों की सहलग्नता (Linking of Nucleotides in DNA)

डी.एन.ए. एक वृहद अणु है जिसका निर्माण हजारों न्यूक्लियोटाइडों के जुड़ने से होता है । ये न्यूक्लियोटाइड निर्माण इकाइयाँ (Building books) या मोनोमर (Monomers Unit) कहलाती हैं । न्यूक्लियोटाइड्स (Adjacent Nucleotides) परस्पर शर्करा फॉस्फेट श्रृंखला (Sugar Phosphate Chain) के माध्यम से जुड़े रहते हैं । इसमें शर्करा तथा फॉस्फेट के अणु एकान्तर क्रम में रहते हैं । नाइट्रोजन आर बहुन्यूक्लियोटाइड श्रृंखला में लम्बवत समकोण पर सीढ़ीनुमा रूप में एक के ऊपर एक (Stacks) लगे रहते हैं । A और T के मध्य दो, G एवं C के मध्य तीन दुर्बल हाइड्रोजन बन्ध होते हैं ।

इरविन चारग्राफ (Erwin Chargaff) (1950) ने बताया कि A हमेशा के T साथ और C हमेशा G साथ संलग्न होता है । A की मात्रा T व, C की मात्रा G के बराबर होती है । सभी जीवों में डी.एन.ए. के क्षारकों का अनुपात व अनुक्रम निम्न होता है । जैसे -

जीवाणु डी.एन.ए.	0.46(A : G)
मनुष्य डी.एन.ए.	1.56(A : G)

1.3.4 डी.एन.ए. की आणविक संरचना (Molecular Structure of DNA)

जेम्स डी. वाटसन और फ्रांसिस हैरी काम्पटन क्रिक (James Dewey Watson and Francis Harry Comption Crick) (1953) नाम के दो अमेरिकी वैज्ञानिकों ने डी.एन.ए. की संरचना का निदर्श बनाया । ये निदर्श एक्सरे क्रिस्टेलोग्राफी तथा डी.एन.ए. के कार्बनिक अणुओं की विशिष्टताओं पर आधारित था । इसके लिए वाटसन और क्रिक को 1962 में नोबल पुरुस्कार मिला । इस डी.एन.ए. निदर्श की निम्नलिखित संरचनात्मक विशेषताऐं हैं -

(1) डी.एन.ए. अणु में दो बहुन्यूक्लियोटाइड श्रृंखलाऐं होती हैं जो एक अक्ष (Common Axis) पर कुण्डलित (Spirally Coiled) होकर एक दक्षिणवर्ती कुण्डलिनी का युग्म (Pair of right handed helical) बनाती हैं । ये दोनों कुण्डलन (Helices) आपस में इस प्रकार लिपटे रहते हैं कि दो प्रकार के खाँचे (Grooves) बनाते हैं । गहरी खींच (Deep Groove) जिसकी चौड़ाई (Width) 12 A^0, गहराई 8.5 A^0, तथा उथली खींच (Shallow Groove) जिसकी चौड़ाई 6 A^0 गहराई 7.5 A^0 होती है । दोनों खींचे आमने सामने होते हैं ।

(2) डी.एन.ए. अणु में दोनों श्रृंखलाऐं विपरीत दिशाओं में अभिविन्यासित (Oriented) होती है । इसका तात्पर्य है कि एक श्रृंखला में शर्करा अणु की ऑक्सीजन ऊपरी तरफ (Face upwards) रहती है जबकि दूसरी श्रृंखला में ऑक्सीजन नीचे की तरफ (Face downwards) रहती है ।

(3) फॉस्फेट और डीऑक्सीराइबोज इकाइयां (Back bone) अणु के बाहरी भाग में (Periphery), नाइट्रोजन क्षार (प्यूरीन, पिरिमिडिन) युग्म के रूप में अन्दर की तरफ श्लाका (Bars) के रूप में लगे रहते हैं ये क्षार लम्बवत अक्ष के समकोण पर लगे रहते हैं तथा एक दूसरे के ऊपर सीढ़ीनुमा क्रम में रहते हैं ।

(4) डी.एन.ए. अणु का व्यास 20 A तथा एक कुण्डलन की लम्बाई 30 A होती है । दो क्षारकों के मध्य 3.4 की दूरी होती है ।

प्रत्येक कुण्डलन में 10 क्षार युग्म (Base Pair) होते हैं । दो निकटवर्ती क्षार युग्मकों के बीच 34 A^0 की दूरी होती है ।

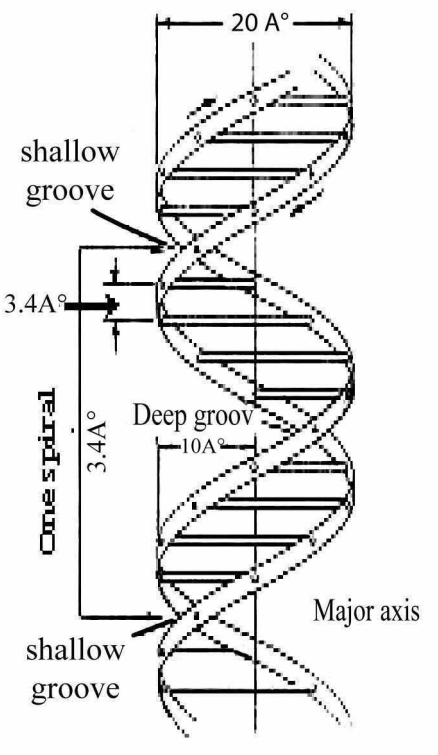


Fig 1.4 Structure of DNA

(5) दोनों श्रृंखलाऐं नाइट्रोजन क्षारों के युग्मों के मध्य बनने वाले हाइड्रोजन बन्धों से आपस में जुड़ी रहती है । एडेनिन (A) हमेशा (T) थाइमीन से 2 हाइड्रोजन बन्धों (A=T) से जुड़ता है । ये हमेशा 6' तथा 1' स्थलों के मध्य जुड़ते हैं । ग्वानिन (G) साइटोसिन (C) से 3 हाइड्रोजन बंधों (C=G) 6',1', व 2' स्थलों के मध्य जुड़े रहते हैं । हाइड्रोजन बंध कमजोर

प्रकृति के होते हैं परन्तु अधिक संख्या में होने के कारण ये डी.एन.ए. के दोनों सूत्रों को संयोजित कर पाते हैं ।

(6) A+T तथा C+G के मध्य पाये जाने वाले अनुपात और ना ही एक बहुन्यूक्लियोटाइड श्रृंखला में क्षारकों के अनुक्रम पर कोई प्रतिबंध होता है । A हमेशा Tके साथ, C हमेशा G के साथ संलग्न रहता है । इससे स्पष्ट रूप से पता चलता है कि एक बहुन्यूक्लियोटाइड श्रृंखला के क्षारकों का क्रम दूसरी श्रृंखला के क्षारकों के अनुक्रम को निर्धारित कर देता है । दोनों श्रृंखलाऐं एक दूसरे की पूरक (Complementary) मानी जाती हैं ।

(7) एक बहुन्यूक्लियोटाइड श्रृंखला का पिरिमिडिन हमेशा दूसरी श्रृंखला के प्यूरीन से युग्मन (Pairing) करता है ।

(8) डी.एन.ए. के वलयक (Strand) जिसके न्यूक्लियोटाइड क्रम में सूचनाऐं निहित रहती हैं उसे संवेदी स्ट्रेन्ड जबकि दूसरे पूरक स्ट्रेन्ड को प्रत्यर्थ स्ट्रेन्ड (Antisense) कहते हैं ।

(9) दोनों हेलिक्स में विपरीत ध्रुवता (Opposite Ploarity) पाई जाती है । एक श्रृंखला का 3' सिरा दूसरी श्रृंखला के 5' सिरे के समीप स्थित होता है ।

1.4 न्यूक्लियोसाइड (Nucleosides)

न्यूक्लियोसाइड नाइट्रोजन क्षारक और पेन्टोज शर्करा के अणु के संयोजन (β-Glycosidic Linkage) से बनते हैं ।

इस β-ग्लाईकोसिडिक संलग्नता में C-1' शर्करा का और नाइट्रोजन क्षार का हाइड्रोजन परमाणु जो N-9 (प्यूरीन) या N-1 (पिरिमिडिन) पर होता है भाग लेता है ।

नाइट्रोजन क्षार दो प्रकार के होते हैं । प्यूरीन जिसमें एडेनिन ग्वानिन आते हैं तथा पिरिमिडिन जिसमें साइटोसिन, थाइमीन व यूरेसिल आते हैं ।

पेन्टोज शर्करा राइबोज और डीऑक्सीराइबोज होती है ।

न्यूक्लियोसाइड के नाम दो कारकों पर निर्भर करते हैं -

1. पेन्टोज शर्करा के प्रकार
2. नाइट्रोजन क्षार के प्रकार

वो न्यूक्लियोसाइड जिनमें राइबोज होता है राइबोन्यूक्लियोसाइड और जिनमें डीऑक्सीराइबोज होता है डीऑक्सीराइबोन्यूक्लियोसाइड कहलाते हैं ।

Table - The Nucleosides

न्यूक्लियोसाइड्स

क्षार	शर्करा	न्यूक्लियोसाइड	
<u>राइबोन्यूक्लियो साइड्स</u>			
एडेनिन	राइबोज	एडेनीनराइबो न्यूक्लियोसाइड	एडीनोसिन
ग्वानिन	राइबोज	ग्वानिनराइबो न्यूक्लियोसाइड	ग्वानोसिन
साइटोसिन	राइबोज	साइटोसिनराइबो न्यूक्लियोसाइड	साइटीडिन
यूरेसिल	राइबोज	यूरेसिलराइबो न्यूक्लियोसाइड	युरोडीन

<u>डीआक्सीन्यूक्लियो साइड्स</u>				
एडेनिन	डीऑक्सीराइबो	एडेनिन न्यूक्लियोसाइड	डीऑक्सीराइबो	डीऑक्सीएडीनोसिन
ग्वानिन	डीऑक्सीराइबो	ग्वानीन न्यूक्लियोसाइड	डीऑक्सीराइबो	डीऑक्सीग्वानोसिन
साइटोसिन	डीऑक्सीराइबोज	साइटोसिन न्यूक्लियोसाइड	डीऑक्सीराइबो	डीऑक्सीसाइटिडिन
थाइमीन	डीऑक्सीराइबो	थाइमीन न्यूक्लियोसाइड	डीऑक्सीराइबो	डीऑक्सीथाइमिडिन

न्यूक्लियोसाइड एनालोगस को दवा (Drug)की तरह भी उपयोग करते हैं । (AZT)3'-azidodeoxythymidine और (DDC) 2',3'-dideoxycytidine. ये दोनों AIDS रोगियों के इलाज में दवा के रूप में काम आते हैं ।

1.5 न्यूक्लियोटाइड्स (Nucleotides)

जब न्यूक्लियोसाइड में पेन्टोज शर्करा के 5वें कार्बन के साथ फॉस्फेट समूह जुड़ता है तब उसे न्यूक्लियोटाइड कहते हैं ।

राइबोन्यूक्लियो साइड में फास्फोराइलेशन (Phosphorylation) C2', C3', C5' इन तीन स्थानों पर हो सकता है जबकि डीऑक्सीराइबोन्यूक्लियोसाइड में C3', C5', ये दो पोजीशन होती है । (क्योंकि C2' पर हाइड्रोक्सिल (OH)समूह नहीं होता है ।)

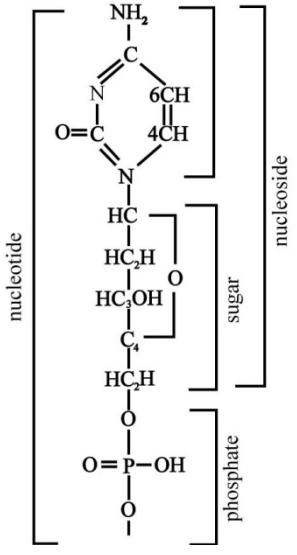


Fig 1.5 Structure of neucleoside and neucleotide

न्यूक्लियोटाइड	(Trivial Name)
(A) <u>राइबोन्यूक्लियोटाइड्स</u>	
(i) एडीनोसिन - 5' - मोनोफॉस्फेट	एडीनिलिक अम्ल

(ii) ग्वानोसिन - 5' - मोनोफॉस्फेट	ग्वानिलिक अम्ल
(iii) साइटीडिन - 5' - मोनोफॉस्फेट	साइटीडिलिक अम्ल
(iv) यूरीडिन - 5' - मोनोफॉस्फेट	यूरीडिलिक अम्ल
(B) 2' डीऑक्सीराइबोन्यूक्लियोसाइड्स	
(i) डीऑक्सीएडीनोसिन - 5' मोनोफास्फेट	डीऑक्सीएडीनिलिक अम्ल
(ii) डीऑक्सीग्वानोसिन - 5' मोनोफास्फेट	डीऑक्सीग्वानिलिक अम्ल
(iii) डीऑक्सीसाइटिडिन - 5' मोनोफास्फेट	डीऑक्सीसाइटीडिलिक अम्ल
(iv) डीऑक्सीथाइमिडिन- 5' मोनोफास्फेट	डीऑक्सीथाइमीडिलिक अम्ल

न्यूक्लियोटाइड्स के कार्य (Function of Nucleotides)

न्यूक्लियोटाइड्स न्यूक्लिक अम्ल की एक उप इकाई (Submit) की तरह तो कार्य करते ही हैं, साथ ही कुछ अतिरिक्त कार्य भी करते हैं । जैसे:-

1. रासायनिक ऊर्जा के वाहक के रूप में (As carriers of chemical energy)

न्यूक्लियोटाइड्स में एक, दो या तीन फॉस्फेट समूह, राइबोस शर्करा के 5'-OH पर जुड़े रहते हैं ।

एक फॉस्फेट समूह - न्यूक्लियोसाइड मोनो फॉस्फेट (NMPs)

दो फॉस्फेट समूह - न्यूक्लियोसाइड डाइफास्फेट (NDPs)

तीन फॉस्फेट समूह - न्यूक्लियोसाइड ट्राईफास्फेट (NTPs)

NTPs को कई जीव रासायनिक (Biochemical reaction) क्रियाओं में रासायनिक ऊर्जा के श्रोत के रूप में प्रयोग लाया जाता है ।

ATP (एडिनोसिन ट्राइफास्फेट) सबसे ज्यादा प्रयोग में लायी जाती है ।

2. एन्जाइम क्षारकों के घटक के रूप में (As components of enzyme factors)

एडीनोसिन बहुत से एन्जाइम सहकारक एवं कोएन्जाइम्स (Cofactor & coenzymes-A, NAD^+,FAD) की संरचना का एक भाग होता है । इनमें से एडीनोसिन सीधे क्रिया में भाग नहीं लेता परन्तु एडीनोसिन को अलग करने पर इस सहकारक की कार्यक्षमता पर विपरीत प्रभाव पड़ता है ।

3. रासायनिक वाहक के रूप में (As chemical messengers)

प्राय: द्वितीय वाहक (Second Messenger) एक न्यूक्लियोटाइड होता है । जैसे :- एडिनोसिन 3', 5'- साइक्लिक मोनोफास्फेट (Cyclic AMP or cAMP) इसी रूप में कार्य करता है ।

1.6 बोध प्रश्न

नोट : (i) प्रत्येक प्रश्न में छोड़ी गई जगह का इस्तेमाल अपने उत्तर लिखने के लिए करें ।

(ii) अपने उत्तर इकाई के अन्त में दिये गये उत्तरों से मिलाए ।

प्रश्न 1 निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर दो :

I रिक्त स्थान भरो:

1. न्यूक्लिक अम्ल ..... घटकों से बने होते हैं ।
2. डी.एन.ए. की संरचना का निदर्श ..... ने दिया है जिसके लिए उन्हें नोबल पुरस्कार मिला ।
3. प्यूरीन में..... वलय और सदस्यों की संख्या ..... होती है ।
4. न्यूक्लिक अम्ल को ..... ने मवाद कोशिकाओं से प्राप्त किया ।
5. डी.एन.ए. एक ..... संरचना है जिसमें दोनों श्रृंखलाएं ..... दिशाओं में अभिविन्यासित रहती हैं ।

प्रश्न 2 बहुविकल्पीय प्रश्न :

II निम्न में से सही उत्तर कोष्ठक में लिखें:

1. पिरिमिडिन का उदाहरण है -
   (अ) थाइमीन (ब) एडीनिन (स) ग्वानिन (द) प्यूरीन
2. डी.एन.ए. के प्रत्येक कुण्डलन में क्षार युग्म होते हैं -
   (अ) 12 (ब) 5 (स)10 (द) 20
3. डी.एन.ए. को आनुवंशिक पदार्थ बताने वाले वैज्ञानिक का नाम -
   (अ) रिचर्ड ऑल्टमन (ब) ग्रिफिथ (स) जॉहनसन (द) कोशल
4. निम्न में से कौनसा कथन सत्य है -
   (अ) पादप विषाणुओं में डी.एन.ए. पाया जाता है । (ब) पादप विषाणुओं में आर.एन.ए. पाया जाता है ।
   (स) पादप विषाणुओं में दोनों पाये जाते हैं । (द) पादप विषाणुओं में दोनों नहीं पाये जाते हैं ।

III निम्न लिखित प्रश्नों के संक्षिप्त में उत्तर दो:

(i) न्यूक्लिक अम्ल कितने प्रकार के होते हैं नाम लिखो ।

.....

(ii) न्यूक्लियोसाइड्स किसे कहते हैं?

.....

(iii) डी.एन.ए. की आकृति यूकेरियोटिक कोशिकाओं में कैसी होती है?

.....

1.7 सारांश (Summary)

आणविक जीव विज्ञान के अन्तर्गत न्यूक्लिक अम्ल का अध्ययन किया जाता है । न्यूक्लिक अस्त सभी सजीव कोशिकाओं में पाये जाने वाले उच्च अणुभार के बहुलक है । न्यूक्लिक अम्ल दो प्रकार के होते हैं - राइबोन्यूक्लिक अम्ल तथा डीऑक्सीराइबोन्यूक्लिक अम्ल ।

न्यूक्लिक अम्ल एक आनुवंशिक पदार्थ है इसके अप्रत्यक्ष व प्रत्यक्ष प्रमाण विभिन्न वैज्ञानिकों द्वारा प्रस्तुत किये गये । डी.एन.ए. की संरचना को समझाने के लिए वाटसन व क्रिक ने द्विकुण्डलिनी निदर्श प्रस्तुत किया । न्यूक्लिक अम्ल मुख्य रूप से तीन घटकों से बने होते हैं - फास्फोरस अम्ल, पेन्टोज शर्करा व नाइट्रोजन क्षारक ।

1.8 शब्दावली (Glossary)

1. **आणविक जीव विज्ञान (Molecular Biology) :** जीव विज्ञान की शाखा जिसमें जैविक अणुओं के बीच आपस में सम्बन्ध का अध्ययन किया जाता है ।
2. **क्षार (Base) :** कोई भी पदार्थ किसी विलयन में H^+ आयन के साथ जुड़कर OH आयन की संख्या में वृद्धि करता है ।
3. **जीवाणुभोजी (Bacteriophage) :** एक प्रकार का वायरस है जो कि बैक्टीरिया की कोशिका में प्रवेश कर उसे नष्ट कर देता है तथा उसमें अपनी प्रतिकृति निर्मित करता है ।
4. **घटक (Compound) :** पदार्थ जो कि दो या अधिक तत्वों का निर्माण करता है ।
5. **डाल्टन (Dalton) :** ये आणविक भार की एक इकाई है तथा ये एकल हाइड्रोजन अणु के भार (1.66×10^{-24} gm) के लगभग बराबर होती है ।
6. **कुण्डलन (Helix) :** जीव विज्ञान में कोई भी सर्पिलाकार संरचना । ये सामान्यतया डी.एन.ए. अणु के आकार के लिए उपयोग में ली जाती है जो कि द्विकुण्डलन के रूप में पाया जाता है ।
7. **पारक्रमण (Transduction) :** डी.एन.ए. का एक बैक्टीरिया से दूसरे बैक्टीरिया में, वाहक (Vector) जो कि एक वायरस होता है की सहायता से स्थानान्तरण ।
8. **संयुग्मन(Conjugation) :** दो सजीव जीवाणुओं में डी.एन.ए. का एक संयुग्मन नलिका की सहायता से स्थानान्तरण संयुग्मन कहलाता है ।
9. **पेन्दोज शर्करा (Pentose Sugar) :** ये 5 कार्बन वाली शर्करा होती है ।
10. **रूपान्तरण (Transformation) :** एक बैक्टिरियल कोशिका के जीनोम में बाह्य डी.एन.ए. के एक भाग के जुड़ने की क्रिया ।

1.9 सन्दर्भ ग्रन्थ (Reference Books)

1. Fundamentals of Biochemistry- जे. एल. जैन, एस. के. जैन
2. कोशिका विज्ञान एवं आनुवांशिकी - शर्मा एवं शर्मा
3. Molecular Biology - पी. के. गुप्ता

1.10 बोध प्रश्नों के उत्तर

प्रश्न 1

I 1.तीन

2.वाटसन व क्रिक

3.दो, नौ

4.फ्रेडरिक मीशर

5.द्विकुण्डलिनी, प्रतिसमानान्तर

प्रश्न 2

II 1. अ

2.स

3.ब

4.ब

III 1. न्यूक्लिक अम्ल दो प्रकार के होते हैं ।

(अ) राइबोन्यूक्लिक अम्ल

(ब) डीऑक्सीराइबो न्यूक्लिक अम्ल

2.एक नाइट्रोजन क्षारक और एक शर्करा अणु के संयोजन से बने अणु को न्यूक्लियोसाइड कहते हैं ।

3.यूकेरियोटिक कोशिकाओं में डी.एन.ए. धागेनुमा और अशासित होता है ।

1.11 अभ्यासार्थ प्रश्न

प्र01 न्यूक्लिक अम्ल क्या होते हैं? इसके प्रकारों को संक्षिप्त में समझाइये ।

प्र02 निम्न पर संक्षिप्त टिप्पणियाँ लिखिए ।

(i) डी.एन.ए. का रासायनिक संगठन

(ii) नाइट्रोजन क्षारक

(ii) डी.एन.ए. के आनुवंशिक पदार्थ होने के प्रत्यक्ष प्रमाण।

(iv) न्यूक्लियोटाइड के कार्य

प्र03 निम्न में अन्तर स्पष्ट कीजिए

(i) प्यूरीन एवं पिरिमिडिन (ii) पारक्रमण एवं संयुग्मन

(iii) न्यूक्लियोसाइड एवं न्यूक्लियोटाइड (iv) डी.एन.ए. एवं आर.एन.ए.

प्र04 न्यूक्लिक अम्ल एक आनुवंशिक पदार्थ है इस वाक्य को किन्हीं दो प्रयोगों द्वारा समझाइये ।

प्र05 डी.एन.ए. के वाटसन व क्रिक निदर्श केचित्र सहित समझाइये ।

इकाई - 2

डी.एन.ए. का प्रतिलिपिकरण, डी.एन.ए. पॉलीमरेज-प्रोकेरियोट्स में, आर.एनए. प्राइमर ओकाजाकी खण्ड, डी.एन.ए. रिपेयर

(Replication of DNA, Polymerase-in prokaryotes, RNA Primer, Okazaki Fragments, DNA Repair)

इकाई की रूपरेखा

2.0 उद्देश्य

2.1 प्रस्तावना

2.2 डी.एन.ए. का प्रतिलिपिकरण

2.3 डी.एन.ए. पॉलीमरेज - प्रोकेरियोट्स में

2.4 आर.एन.ए. प्राइमर

2.5 ओकाजाकी खण्ड

2.6 डी.एन.ए. रिपेयर

2.7 सारांश

2.8 शब्दावली

2.9 सन्दर्भ ग्रन्थ

2.10 बोध प्रश्नों के उत्तर

2.11 अभ्यासार्थ प्रश्न

2.0 उद्देश्य (Objectives)

हम जानते है कि आनुवंशिक सूचनाऐं जनक से संतति में, जनक - डी.एन.ए. की प्रतिकृति के द्वारा होती है । डी.एन.ए. की प्रतिकृति एक जटिल प्रक्रिया है । इस पाठ में डी.एन.ए. से सम्बन्धित निम्नलिखित बिन्दुओं पर चर्चा की गई है -

1. डी.एन.ए. का प्रतिलिपिकरण
2. डी.एन.ए. पॉलीमरेज - प्रोकेरियोट्स में
3. आर.एन.ए. प्राइमर
4. ओकाजाकी खण्ड
5. डी.एन.ए. रिपेयर

2.1 प्रस्तावना (Introduction)

सभी सजीव कोशिकाओं के केन्द्रक में न्यूक्लिक अम्ल होते हैं । न्यूक्लिक अम्ल दो प्रकार के होते हैं डी.एन.ए. एवं आर.एन.ए. । डी.एन.ए. आनुवंशिक पदार्थ होता है जो लक्षणों को एक कोशिका से उसकी संतान (Offspring) में ले जाता है । डी.एन.ए. एक आण्विक ब्लूप्रिन्ट है जिसके पास अपनी प्रतिकृति की सूचना होती है । डी.एन.ए. दोहरे स्ट्रेन्ड या एक स्ट्रेन्ड का बना होता है । वॉटसन एवं क्रिक के अनुसार डी.एन.ए. के पूरक क्षारीय जोड़ों की आवश्यकता ही डी.एन.ए. प्रतिकृति के लिए उत्तरदायी है । डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण में जनक द्विकुण्डलिनी डी.एन.ए. से उसी के समान (Identical) संतति द्विकुण्डलिनी डी.एन.ए. अणु का संश्लेषण होता है ।

डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण की तीन परिकल्पित विधियां मानी गई हैं ।

1. अर्द्धसंरक्षी प्रतिलिपिकरण (Semiconservative replication)
2. संरक्षी प्रतिलिपिकरण (Conservative replication)
3. परिक्षेपी प्रतिलिपिकरण (Dispersive replication)

इनमें से दूसरी व तीसरी परिकल्पनाओं के प्रमाणों के ना मिलने के कारण अमान्य हो गई । डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण में कुछ एन्जाइम आवश्यक है जैसे कि डी.एन.ए. पॉलीमरेज एन्जाइम और पॉलीन्यूक्लियोटाइड लाइगेज । कोशिकाओं में कई डी.एन.ए. पॉलीमरेज मिलते हैं, कुछ प्रतिलिपि में सहायता करते हैं एवं कुछ क्षतिग्रस्त अनुक्रमों को ठीक करने में भाग लेते हैं । प्रोकेरियोटिक कोशिकाओं में तीन तरह के डी.एन.ए. पॉलीमरेज मिलते हैं । डी.एन.ए. पॉलीमरेज I,II, एवं III । डी.एन.ए. पॉलीमरेज III को एक प्राइमर की आवश्यकता होती है । आर.एन.ए. पॉलीमरेज तथा प्राइमेज दोनों एन्जाइमों से लगभग 10-60 न्यूक्लियोटाइड लम्बा आर.एन.ए. प्राइमर संश्लेषित होता है । इन आर.एन.ए. प्राइमर में डी.एन.ए. का निर्माण होता है ।

डी.एन.ए. सूत्र 1000-2000 न्यूक्लियोटाइड्स वाले छोटे-छोटे खण्डों में संश्लेषित होते हैं जिन्हें ओकाजाकी खण्ड कहते हैं । प्रोकेरियोटिक एवं यूकेरियोटिक कोशिकाओं में क्षतिग्रस्त डी.एन.ए. को ठीक (Repair) करने के लिए रिपेयर एन्जाइम सिस्टम (Repair enzyme system) होता है ये तीन प्रकार से होता है । प्रत्यक्ष सुधार (Direct repair) कर्तन सुधार (Excision repair) और कुमेल सुधार (Mismatch repair).

2.2 डी.एन.ए. का प्रतिलिपिकरण (Replication of DNA)

न्यूक्लिक अम्ल प्रोकेरियोटिक एवं यूकेरियोटिक कोशिकाओं में पाये जाने वाले उच्च अणुभार के जीव बहुलक है । न्यूक्लिक अम्ल दो प्रकार के होते हैं डी.एन.ए. एवं आर.एन.ए. । डी.एन.ए. एक आनुवंशिक पदार्थ है । एक सजीव की सभी कोशिकाओं में समान मात्रा व समान प्रकार का डी.एन.ए. होता है । कोशिका विभाजन के साथ-साथ डी.एन.ए. का प्रतिलिपिकरण भी हो जाता है।

डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण : सामान्य लक्षण (DNA replication : General features)

जनक से संतति में आनुवंशिक सूचनाऐं, जनक डी.एन.ए. अणु के प्रतिलिपिकरण के द्वारा संचारित होती हैं । डी.एन.ए. से डी.एन.ए. के निर्माण को प्रतिलिपिकरण (replication) कहते हैं । संतति डी.एन.ए., जनक डी.एन.ए. के समान (identical) होते हैं । संतति डी.एन.ए. में एक सूत्र नया होता है तथा एक पुराना । नया सूत्र पुराने सूत्र का पूरक (replica) होता है इसीलिए इसे प्रतिलिपिकरण (replication) कहते है ।

वॉटसन और क्रिक (Watson and crick) ने डी.एन.ए. की द्विकुण्डलिनी संरचना के आधार पर उसके प्रतिलिपिकरण की सरल प्रक्रिया समझाई । उनके अनुसार डी.एन.ए. द्विकुण्डलन के दोनों सूत्रों (strands) के मध्य के कमजोर हाइड्रोजन बंध टूट जाने से न्यूक्लियोटाइड अलग हो जाते हैं । विशिष्ट क्षारक युग्मन (specific base pairing) का गुण होने के कारण अलग हुए सूत्र के न्यूक्लियोटाइड कोशिकाद्रव्य में से अपने पूरक न्यूक्लिक न्यूक्लियोटाइड को आकर्षित करते है । पूर्ववर्ती सूत्रों के क्षारकों से उनके पूरक सूत्रों के क्षारक युग्मन करते हैं । इनके फॉस्फेट एवं शर्करा अणुओं के आपस में जुड़ने से नये डी.एन.ए. सूत्र का निर्माण होता है ।

डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण की तीन परिकल्पनात्मक विधि मानी गई है ।

1. संरक्षी विधि (conservative method) डी.एन.ए. अणु के दोनों सूत्रों पर दो नये डी.एन.ए. सूत्र संश्लेषित हो जाते हैं । इनमें जनक व संतति डी.एन.ए. अणु में पुराने व नये सूत्र होते हैं ।
2. परिक्षेपी विधि (Dispersive method) इनमें डी.एन.ए. अणु खण्डों में विभक्त हो जाता है और जब यह खण्ड दो डी.एन.ए. अणु बनाते हैं तब कहीं पुराने कहीं नये खण्ड जुड़े होते है।
3. अर्द्धसंरक्षी विधि (Semiconservative method) इसमें डी.एन.ए. अणु अकुण्डलित हो जाता है । प्रत्येक सूत्र नव डी.एन.ए. अणु निर्माण के लिए प्रारूप (template) का कार्य करती है । इसी पर पूरक सूत्र बनते हैं । संतति अणु में एक सूत्र नया दूसरा पुराना होता है ।

पहली दोनों विधियां प्रमाणों के अभाव में अमान्य हो गई ।

डी.एन.ए. का अर्द्धसंरक्षी प्रतिलिपिकरण के प्रमाण (Evidence for semiconservative replication of DNA)

सर्वप्रथम 1958 में एम. मेसेल्सन एवं एफ. डब्ल्यू. स्टील (M.Meselson & F.W. Stahl) ने एक प्रयोग के द्वारा बताया कि डी.एन.ए. अणु में अर्द्ध संरक्षी विधि से प्रतिलिपिकरण होता है । मेसेल्सन व स्टील ने ई. कोलाई (E.Coli) को नाइट्रोजन के भारी आइसोटोप (N^{15}) युक्त माध्यम पर 14 पीढ़ियों तक वर्धित (grow) किया । इससे उनके डी.एन.ए. की N^{14} ने N^{15} स्थान ले लिया, (replaced) । इसके बाद जीवाणुओं को N^{14} युक्त माध्यम पर वर्धित किया । जब N^{15} युक्त जीवाणुओं के डी.एन.ए. को सीजियम क्लोराइड (cesium chloride) के विलयन में अधिक गति पर अपकेन्द्रित (centrifugation) किया जाता है तब वह डी.एन.ए. नली में सान्द्रण प्रवणता (concentration gradient) द्वारा एक संकरी पट्टी बनाता है । एक कोशिका पीढ़ी के लिए लगभग 30 मिनट का समय लगता है इसलिए एक या ज्यादा पीढ़ी के

प्रतिलिपिकरण के बाद हम कोशिका को हटा भी सकते हैं । इस प्रयोग में परिणामस्वरूप प्रथम पीढ़ी में एक ही घनत्व पट्टी (Density band) दिखाई देती है । इसमें पता चलता है कि डी.एन.ए. अणुओं का घनत्व भारी व हल्के डी.एन.ए. अणुओं के मध्यवर्ती या दो पीढ़ी के बाद दो घनत्व पट्टी (2 density band) दिखाई देती थी । कुछ डी.एन.ए. अणु मध्यवर्ती (hybrid) घनत्व वाले जबकि कुछ डी.एन.ए. अणु हल्के घनत्व वाले थे । तीन पीढ़ी के बाद भी हल्के और मध्यवर्ती घनत्व वाले डी.एन.ए. अणु प्राप्त हुए । इनमें हल्के डी.एन.ए. अणु कई गुणा अधिक थे । मेसेल्सन एवं स्टील का ये प्रयोग अर्द्धसंरक्षी प्रतिलिपिकरण को प्रमाणित करता है ।

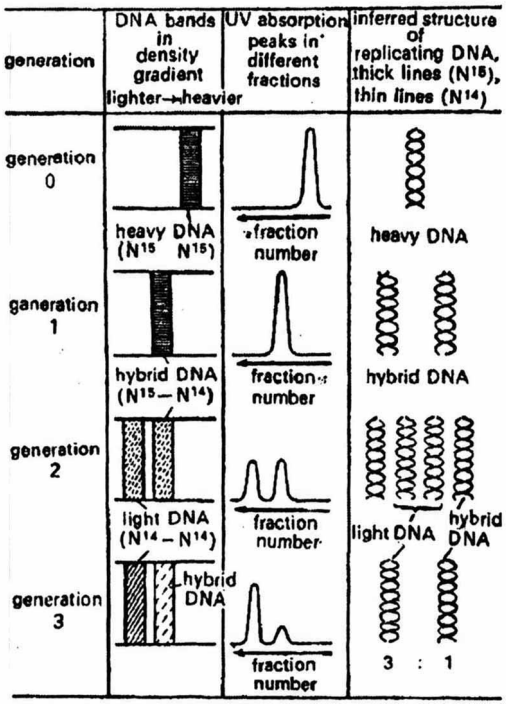


Fig.1 Experiment of Meselson and Stahl demonstrating semi-conservative replication

ऑटोरेडियोग्राफी द्वारा प्रतिलिपिकरण फोर्क का दृष्टिगोचर

(Visualization of Replication fork by Autoradiography)

जे. केयर्नस (J. Cairns 1963) E.coli पर प्रयोग कर ऑटोरेडियोग्राफ के आधार पर दर्षाया कि अर्द्धसंरक्षी प्रतिलिपिकरण होता है । जे. केयर्न्स ने इस प्रयोग में E.coli कोशिकाओं को ट्राइटियम चिन्हित थाईमिडिन (H^3- TdR-tritiated thymidine) माध्यम में लगभग दो पीढ़ी तक वृद्धि करने दिया । [H^3 हाइड्रोजन का भारी आइसोटोप है ये थाईमिडिन के सामान्य हाइड्रोजन की जगह ले लेता है (replaces)] H^3- TdR केवल DNA को चिन्हित करता है RNA को नहीं । ऑटोरेडियोग्राफ को देखने से पता चलता है प्रतिलिपिकरण नियमित मध्यान्तर (regular intervals) पर हुआ । हल्के घनत्व वाले बिन्दु से पता चलता है कि दो में से एक

सूत्र (strand) ही चिन्हित labelled हुआ जबकि भारी घनत्व वाले बिन्दु बताते हैं कि दोनों सूत्र चिन्हित हुए हैं । अत: स्पष्ट होता है कि ये अर्द्ध संरक्षी विधि का प्रतिलिपिकरण हैं ।

कोशिकाओं को लयन (lysis) करके एकत्रित कर उनका ऑटोरेडियोग्राफ प्राप्त किया और ज्ञात हुआ कि ई. कोलाई का गुणसूत्र जो वलयाकार होता है प्रतिलिपिकरण के समय Y आकार का दिखता है । जनक द्विकुण्डलन 360^0 पर चूम जाने से अकुण्डलित हो जाते हैं तथा फोर्क के तरह दिखाई देता है । ये प्रतिलिपिकरण एक निश्चित बिन्दु से जिसे उद्गम बिन्दु (inititation point or origin) कहते हैं; शुरू होता है । ये प्रतिलिपिकरण दोनों दिशाओं (bidirectional) होता है । Y आकार की संरचना को प्रतिलिपिकरण फोर्क कहते हैं । ई. कोलाई में प्रतिलिपिकरण के उद्गम को OriC कहते हैं । जिसमें 245 न्यूक्लियोटाइड युग्म होते हैं । दो भिन्न संरक्षित आवर्ती अनुक्रम होते हैं । एक 13bp अनुक्रम 3 टेण्डम आवृत्तियों (tandem repeats) में होती है । इनमें A:T का बाहुल्य होता है जहां पर प्रतिकृति बुलबुला (replication babble) बनता है वहां से डी.एन.ए. के दोनों सूत्र अलग हो जाते हैं । दूसरा संरक्षित अवयव 9bp अनुक्रम 4 आवृत्तियों में होता है ।

1957 में जे. एच. टेलर (J.H. Taylor) और उनके सहयोगियों ने विधियाँ फेबा (vicia faba) की मूलाग्र कोशिकाओं में ऑटोरेडियोग्राफी द्वारा यूकेरियोटिक गुणसूत्रों की अर्द्धसंरक्षी प्रतिलिपिकरण को प्रदर्शित किया ।

इन्होंने मूआग्र कोशिकाओं को H^3-TdR माध्यम में कुछ घण्टे (8 घण्टे) रखा एवं बाद में उस माध्यम से हटाकर धोकर, दूसरे माध्यम (कोल्चेशियन) पर स्थानान्तरित कर दिया कोल्चेशियन के कारण गुणसूत्रों में एनाफेजिक गति नहीं होती है और गुणसूत्रों की संख्या दुगुनी हो जाती है । इस प्रयोग से पता चलता है कि प्रथम पीढ़ी में दोनों क्रोमेटिड चिन्हित होते हैं । दूसरी पीढ़ी में प्रत्येक गुणसूत्र का एक अर्द्धगुणसूत्र (chromatid) चिन्हित होता है ।

इससे स्पष्ट होता है कि मेटाफेज पर प्रथम पीढ़ी के गुणसूत्रों के दोनों अर्द्धगुणसूत्रों में समान रूप से रेडियोएक्टिवता थी परन्तु द्वितीय मेटाफेज में एक ही अर्द्धगुणसूत्र में ही रेडियोएक्टिवता पाई गई । गुणसूत्रों में द्विकुण्डलित डी.एन.ए. का पुराना सूत्र रेडियोएक्टिव था एवं नया सूत्र रेडियोएक्टिव नहीं था । टेलर व सहयोगियों ने निष्कर्ष निकाला कि डी.एन.ए. में अर्द्ध संरक्षी प्रतिलिपिकरण होता है ।

एकद्विशिक एवं द्विदिशिक प्रतिलिपिकरण (Unidirectional and bidirectional DNA replication)

जे. केयर्नस ने अपने ऑटोरेडियोग्राफ वाले प्रयोग से निष्कर्ष निकाला था कि डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण एक निश्चित बिन्दु से शुरू होता है एवं एक ही दिशा में बढ़ता है । आधुनिक परीक्षणों द्वारा पता चलता है कि ये द्विदिशिक होता है । ऑटोरेडियोग्राफी इलेक्ट्रॉन माइक्रोस्कोपी और आनुवांशिकी के अध्ययन से इसके द्विदिशिक होने के प्रमाण मिलते हैं ।

यीस्ट (year), फलमक्खी (fruitfly), स्तनधारियों में (Eukaryotic) द्विदिशिक प्रतिलिपिकरण मिलता है इनमें डी.एन.ए. संश्लेषण कई स्थानों पर से एक लूप (loop) की तरह शुरू होता है

जिसे बुलबुलों या आँखें (bubbles or eyes) कहते हैं । द्विदिशिकप्रतिलिपिकरण में दोनों सिरे गति करते हैं, कोई भी स्थिर नहीं होता। सर्वप्रथम प्रायोगिक रूप से द्विदिशिक प्रतिलिपिकरण को लेम्डा फेज वायरस के द्वारा बताया गया ।

केवल कालीफेज P_2 (coliphage P_2) के गुणसूत्र का प्रतिलिपिकरण उद्गम से एकद्विशिक होता है ।

एक द्विशिक प्रतिलिपिकरण में बुलबुलों का एक सिरा स्थिर रहता है जबकि दूसरा सिरा प्रतिलिपिकरण में गति करता है । वर्टीब्रेट्स के माइटोकोन्ड्रिया डी.एन.ए. (mt DNA) में D-loops के द्वारा एकद्विशिक प्रतिलिपिकरण होता है ।

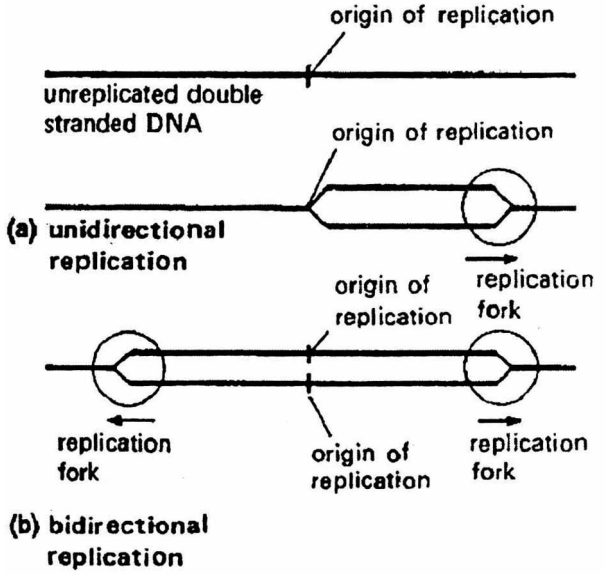


Fig.2 The difference between unidirectional and bidirectional replication in the movement of replication forks

प्रतिलिपिकरण के मुख्य एन्जाइम एवं प्रोटीन (Main enzymes and proteins of replication)

1. डी.एन.ए. पॉलिमरेज (DNA polymerase)

ये एन्जाइम सांचे पर नये डी.एन.ए. सूत्र को संश्लेषित करता है । कुछ डी.एन.ए. पॉलिमरेज प्रतिलिपिकरण में सहायता करते हैं कुछ क्षतिग्रस्त डी.एन.ए. को ठीक करने में सहायता करते हैं । प्रोकेरियाटिक कोशिकाओं में डी.एन.ए. पॉलिमरेज I,II व III पाये जाते हैं ।

यूकेरियाटिक कोशिकाओं में डी.एन.ए. पॉलिमरेज $\alpha, \beta, \lambda, \delta$, पाये जाते हैं ।

(i) डी.एन.ए. पॉलिमरेज α (Cytoplasmic polymerase) - इसका आण्विक भार अधिक होता है ।

(ii) डी.एन.ए. पॉलिमरेज β (Nuclear polymerase) ये केवल पृष्ठवंशी (Vertebrates) में मिलता है ।

(iii) डी.एन.ए. पॉलिमरेज γ (Mitochondrial polymerase)

(iv) डी.एन.ए. कहाँ पाया जाता है ?

पॉलिमरेज δ (PCNA-proliferating cell nuclear antigen) स्तनधारियों में मिलता है ।

(v) डी.एन.ए. पॉलिमरेज ε (PCNA) स्तनधारियों और यीस्ट में मिलता है ।

2. आर.एन.ए. प्राइमर (RNA Primers)

ऐसा कोई भी डी.एन.ए. पॉलिमरेज एन्जाइम ज्ञात नहीं है जो प्राइमर स्ट्रेन्ड के बिना डी.एन.ए. संश्लेषण को शुरू ना कर सके । पहले आर.एन.ए. के छोटे-2 खण्ड बनते हैं फिर डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण शुरू होता है । यदि आर. एन.ए. का संश्लेषण रोक दिया जाये तो डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण भी रुक जाता है ।

3. हेलीकेज (Helicase)

यह एन्जाइम डी.एन.ए. के दोनों स्ट्रेन्डों के हाइड्रोजन बन्धों को तोड़कर पृथक कर देता है । ये एन्जाइम ATP निर्भर होता है । डी.एन.ए. को अकुण्डलित कर प्रतिलिपि फोर्क बनाने में सहायता करता है ।

4. डी.एन.ए. लाइगेज (DNA Ligase)

प्रतिलिपिकरण के समय यह एन्जाइम ओकाजाकी खण्डों को (पॉलीन्यूक्लियोटाइड खण्डों को) जोड़ने का कार्य करता है । .5' फॉस्फेट सिरे एवं 3'-OH के बीच फॉस्फोडाइएस्टर बंध का संश्लेषण इसके द्वारा किया जाता है । लाइगेज की सक्रियता के लिए डी.एन.एन. आवश्यक ऊर्जा प्रदान करता है । '

5. डी.एन.ए. टोपोआइसोमरेज (DNA Topoisomerase)

यह एन्जाइम दो प्रकार के होते हैं -

(i) डी.एन.ए. टोपोआसोमरेज I - ये डी.एन.ए. के एक सूत्र को काटता है और दूसरे सूत्र के चारों ओर घुमाव देकर डी.एन.ए. को सीधा कर देता है । फिर काट को बन्द कर देता है । इसमें ATP उपयोग नहीं होता है ।

(ii) डी.एन.ए. टोपोआइसोमरेज II - ये डी.एन.ए. के दोनों सूत्रों को काटकर सीधी सीढ़ी के समान करता है । इसके लिए ऊर्जा ATP से मिलती है । इसे गायरेज (gyrase) भी कहते हैं ।

6. एक सूत्र बंधन प्रोटीन (SSB protein - Single stranded binding protein)

यह डी.एन.ए में नाइट्रोजन क्षार को ढक देता है जिससे डी.एन.ए. में पुन: हाइड्रोजन बन्ध नहीं बन पाता । यह एक टेट्रामर है । यह एकल सूत्र को स्थिर रखता है, कुण्डलित नहीं होने देता है ।

डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण के लिए रिप्लीकोन (Replicons for DNA Replication)

प्रोकेरियोट्स और यूकेरियोट्स के गुणसूत्रों में एक उद्गम होता है जो सम्पूर्ण गुणसूत्र के प्रतिलिपिकरण को नियन्त्रित करता है । प्रत्येक उद्गम डी.एन.ए. की एक इकाई प्रतिलिपि को नियन्त्रित करता है इसे रिप्लीकोन (replicon) कहते हैं । प्रोकेरियोटिक गुणसूत्र में एक जबकि

यूकेरियोटिक गुणसूत्र में अनेक रिप्लीकोन होते है । बैक्टीरिया (ई. कोलाई) में एक रिप्लीकोन यीस्ट में 500, पशुओं व पेड़ों में कई हजार तक रिप्लीकोन होते है ।

यूकेरियोट्स में बहुत सारे रिप्लीकोन होते हैं परन्तु एक रिप्लीकोन छोटा ही होता है और उसकी प्रतिलिपिकरण की दर धीमी होती है । सभी रिप्लीकोन एक ही समय पर प्रतिलिपिकरण शुरू नहीं करते हैं । प्रतिलिपिकरण की शुरुआत विभिन्न रिप्लीकोन्स में एक व्यवस्थित क्रम में होता हैं ।

Organism	No.of replicons	Average length (kb)	Fork movement (bp/min)
Bacteria (E.coli)	1	4200	50,000
Yeast (S.cerevisiac)	500	40	3,600
Fruitfly (D.melanogaster)	3500	40	2,600
Toad (X.laevis)	15000	200	500
Mouse (M.musculus)	25000	150	2,200
Bean (vicia faba)	35000	300	not known

प्रोकेरियोट्स में डी.एन.ए. का प्रतिलिपिकरण (DNA Replication in Prokaryotes)

प्रोकेरियोट्स में डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण का प्रयोगशाला में विस्तृत अध्ययन ई. कोलाई, में किया गया है । डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण में भाग लेने वाले जीनस तथा प्रोटीन्स की पहचान आनुवंशिकी तथा जैव रसायनिक विधियों द्वारा की गई । ई. कोलाई में प्रतिलिपिकरण निम्न प्रकार से होता है ।

डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण का प्रारम्भन (Initiation of DNA replication)

प्रीप्राइमिंग (prepriming) और प्राइमिंग (priming) इन दो चरणों में प्रतिलिपिकरण का प्रारम्भन होता है । प्रीप्राइमिंग केवल उद्गम पर होती है जबकि OriC से प्रतिलिपिकरण प्रारम्भ से होता है । प्रतिलिपि बुलबुला OriC तथा प्रीप्राइमिंग प्रोटीन की क्रिया से बनता है । प्रीप्राइमिंग डी.एन.ए. के चार अणु +ATP oric के 4-9 bp व्युत्क्रम रिपीट्स के जुड़ते हैं (R_1 $R_2R_3R_4$) जिससे डी.एन.ए. के अनुक्रमों के 3 प्रत्यक्ष रिपीट्स खुलने के लिए प्रेरित करते है । (इन्हें 13-mers कहते हैं ।)

- ATP की उपस्थिति Dna B में हेलीकेज अकुण्डलन को प्रेरित करता है । Dna C भी इसमें सहायता करता है बाद में स्वयं बाहर निकल जाता है । अकुण्डलन में S.S.B.P और DNA गायरेज भी सहायता करते हैं । Dna B हेलीकेज डी.एन.ए. के दोनों सूत्रों के हाइड्रोजन बन्धों को तोड़ता है । यह विकुण्डलन 3000 परिक्रमण प्रतिमिनट होता है जिससे प्रतिलिपिकरण फोर्क वलयाकार डी.एन.ए. के चारों ओर लिपटने लगती है और प्रतिलिपिकरण

रुक जाता है तब डी.एन.ए. गायरेज दोनों सूत्रों को एक स्थान से काट कर, बल निकालकर सीधी सीढ़ी समान करता है और कटाव बंद कर देता है । अकुंडलन और प्रतिलिपिकरण Oric से द्विदिशिक होता है । S.S.B प्रोटीन डी.एन.ए. के एक सूत्र पर संलग्न हो जाता है और दोनों सूत्रों को कुंडलित होने से रोकता है Dna B दे के दो कोंम्पलेक्स एक से दो सूत्र पर होते है ।

- अकुंडलन के बाद Dna G Primase के द्वारा R.N.A प्राइमर का संश्लेषण होता है । DNA Pol III HE (Holoenzyme) इन प्राइमर को लम्बित (elongated) करता है ।

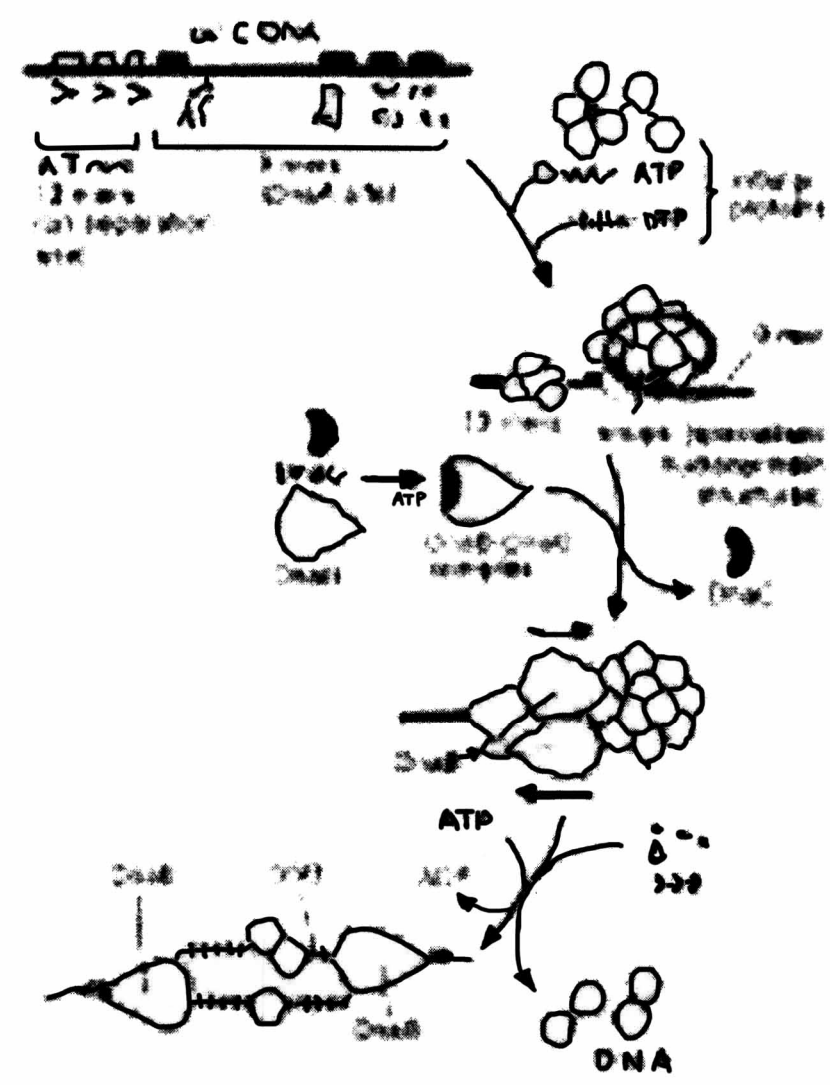


Fig.3 model of the initiation of DNA replilcation at OriC of E. Coli

- दोनों DNA सांचों पर दो नये DNA सूत्रों का संश्लेषण विपरीत दिशा में होता है एवं दोनों श्रृंखलाऐं 3' $\rightarrow$5' की दिशा में अपने 5' सिरे से वृद्धि करती है । DNA के 3' सिरे पर लगातार DNA बनते है जिसे अग्रगामी स्ट्रेन्ड (leading strand) कहते है । DNA के 5' सिरे पर संश्लेषण फोर्क से दूरस्थ और असतत रूप में होता है उसे पश्चगामी स्ट्रेन्ड

(Lagging strand) कहते हैं । RNA पॉलिमरेज DNA प्राइमेज RNA Fig. 3 Model of the initiation of DNA replication प्राइमर का संश्लेषण करते हैं जो कि at oriC of E.coli नये DNA सूत्र के संश्लेषण के प्रारम्भन के लिए आवश्यक है । RNA प्राइमर 10-60 न्यूक्लियोटाइड लम्बा RNA अणु होता है जो स्वतन्त्र OH समूह प्रदान करता है । पश्चगामी स्ट्रेन्ड्स के एक खण्ड को ऑकाजाकी खण्ड कहते हैं इसके निर्माण के लिए एक प्राइमर की आवश्यकता होती है । अग्रगामी स्ट्रेन्ड पर भी लगातार प्रतिलिपिकरण के लिए एक RNA प्राइमर की आवश्यकता होती है ।

- प्राइमोसोम(Primosome) सम्मिश्र प्रोटीन है जो DNA प्राइमेज एवं DNA हेलीकेज से बनता है । अग्रगामी स्ट्रेन्ड पर RNA प्राइमर 3' सिरे पर डीऑक्सी राइबोन्यूक्लिओटाइड जुड़ने से नया डी. एन.ए. सूत्र 5' $\rightarrow$3' दिशा में बनता है । ATP एवं DNA Pol III इस क्रिया को प्रभावित करती है । पश्चगामी स्ट्रेन्ड पर नया डी.एन.ए.सूत्र 3'5' दिशा में संश्लेषित होता है । नये सूत्र का संश्लेषण आरम्भ होने पर DNA प्राइमेज वियोजित हो जाता है । प्राइमर के स्वतंत्र 3'OH से 1000-2000 न्यूक्लियोटाइड वाले छोटे-छोटे DNA खण्ड संश्लेषित होते है इन खण्डों को ऑकाजाकी खण्ड (Okazaki fragment) कहते है । एक के बाद एक DNA प्राइमर व ऑकाजाकी खण्डों का संश्लेषण होता है ।
- ओकाजाकी खण्ड बनने के बाद RNA प्राइमर का विखण्डन हो जाता है खाली स्थान DNA Pol I द्वारा न्यूक्लियोटाइड अवशेषों के द्वारा पूर्ण कर दिये जाते हैं । अंत में DNA लाइगेज दो न्यूक्लियोटाइडों के मध्य फास्फोडाइएस्टर बंध बनाकर DNA सूत्र को जोड़ता है।

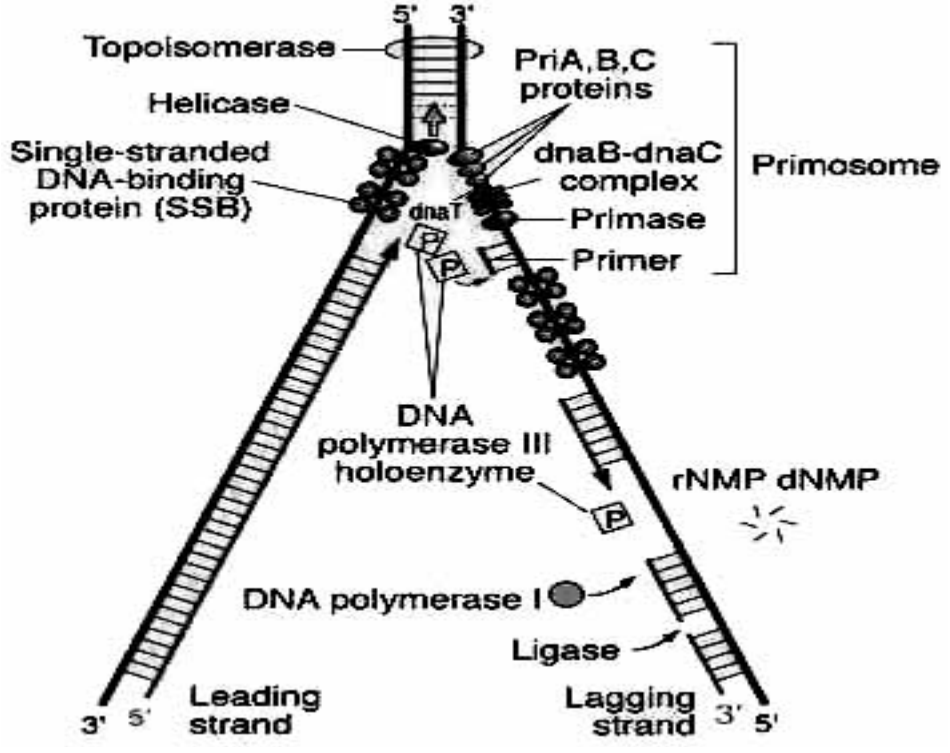


Fig 1.4 E. Coli की पुनरावर्ती फोर्क पर पुनरावर्ती उपकरण के मुख्य अवयव

- DNA Pol I एन्जाइम प्रूफ रीडिंग (Proof reading) का कार्य भी करता है ।जब न्यूक्लियोटाइड में गलत युग्मन (mispaird) होता है (10000-100000 में से एक) तब ये एन्जाइम गलत न्यूक्लियोटाइड को अलगकर सही न्यूक्लियोटाइड लगाता है । Fig. 4 E.coli की पुनरावर्ती फोर्क पर पुनरावर्ती उपकरण के मुख्य अवयव Oric पर लगभग 180 ^{0} के सम्मुख दोनों प्रतिलिपि फोर्क संलग्न रहती है । इसमें कई समापन क्षेत्र होते हैं जो फोर्क की गति को समाप्त करते हैं । ये DNA हेलीकेज की क्रिया को भी रोक देते हैं । प्रतिलिपिकरण पूरा हो जाने पर टोपोआसोमरेज के द्वारा दो संलग्न सूत्री वलय पृथक की जाती है।

यूकेरियोटिक गुणसूत्र का प्रतिलिपिकरण (Replication of eukaryotic chromosome)

मनुष्यों समेत सभी यूकेरियोट्स में DNA की प्रतिलिपि एक तरह से प्रोकेरियोट्स के समान ही होती है जबकि यूकेरियोट्स में RNA प्राइमर, ओकाजाकी खण्ड छोटे होते हैं । इनमें प्रतिलिपिकरण के कई उद्गम स्थल होते हैं । कोशिका चक्र (cell cycle) की S-अवस्था में प्रतिलिपिकरण होता है । S-अवस्था में DNA प्रतिलिपिकरण के साथ-2 हिस्टोनयुक्त संरचना का भी प्रतिलिपिकरण होता है (न्यूक्लियोसोम) । यूकेरियोट्स में DNA प्रतिलिपिकरण के कई उद्गम होते हैं । (कई हजार) 10^3 से 10^5 एक कोशिका चक्र में इतने प्रतिलिपिकरण की क्रिया होती है) इसलिए S-अवस्था की अवधि में बहुत भिन्नता मिलती है जैसे 3.4 min की S-अवस्था होती है भ्रूणीय कोशिका में, परन्तु ड्रोसोफिला से संवर्धित कोशिका में 10 घण्टे की होती है ।

अत: अलग-2 उद्गम के लिए विभिन्न विषेश आरम्भन प्रोटीन की जरूरत होती है ।

डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण का उद्गम व समारम्भन (Replication origins and initiation of DNA replication)

प्रतिलिपिकरण उद्गम के आधार पर यूकेरियोट्स को दो जीनोम में बांटा जा सकता है ।

(1) साधारण जीनोम (Simple genome) जिसमें यीस्ट व कुछ यूकेरियोटिक वायरस आते हैं।

(2) जटिल जीनोम (Complex genome) जिसमें गुणसूत्रों के विषेश भाग आते हैं, xenopus, Chinese hamster, ovary CHO cell lines.

ड्रोसोफिला व अन्य मेटाजोन्स :

साधारण जीनोम में ori दो भागों का होता है -

(1) कोर घटक - (core component)

ORE+DUE+A/T (Origin Recognition element) (DNA-unwinding element)

(2) सहायक घटक - (auxiliary components)

eg.Aux-1, Aux-2

ड्रोसोफिला में 7000 प्रतिलिपिकरण फोर्क DNA अणु पर समान दूरी में बनने चाहिए तभी निश्चित अवधि में इतने बड़े DNA का प्रतिलिपिकरण सम्भव है ।

यीस्ट में 400 प्रतिलिपिकरण फोर्क, स्तनधारियों में 50000-100000 प्रतिलिपिकरण फोर्क बनते हैं ।

रिप्लीकोन (replicon) DNA का वह खण्ड है जिसका प्रतिलिपिकरण एक उद्‌गम एवं इसके दो सिरों के नियन्त्रण में होता है ।

20-25 रिप्लीकोन समूह S-अवस्था में प्रारम्भ होते है जो प्रारम्भिक S -अवस्था में यूक्रोटिन भाग में प्रतिलिपिकरण करते हैं और late S-अवस्था में हिटरोक्रोमेटिन भाग में प्रतिलिपिकरण करते हैं । सेन्ट्रामेरिक और टीलोमरिक क्रम बाद में प्रतिलिपिकरण होता है ।

यूकेरियोट्स में डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण के चरण (Different steps in Eukaryotic otic DNA replication)

(1) यूकेरियोटिक डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण के लिए प्रोकेरियोट्स के समान दो प्रकार के पॉलिमरेज आवश्यकता होती है
   (i) डी.एन.ए. पॉलिमरेज α
   (ii) डी.एन.ए. पॉलिमरेज δ
   ये दोनों प्रोकेरियोट्स के डी.एन.ए. पॉलिमरेज I & II के समान होते हैं ।

(2) डी.एन.ए. पॉलिमरेज δ अग्रगामी स्ट्रेन्ड पर डी.एन.ए. संश्लेषित करता है, जबकि डी.एन.ए. α डी.एन.ए. के एक छोटे खण्ड (i DNA) का RNA प्राइमर के उपरान्त संश्लेषण करता है। तत्पश्चात् दोनों स्ट्रेन्डों पर DNA pol δ डी.एन.ए. संश्लेषण का कार्य करता है ।

(3) अन्य घटक जो DNA प्रतिलिपिकरण में सहायता करते हैं -
   (a) T एन्टीजन (Tumour antigen)
   (b) प्रतिलिपिकरण प्रोटीन 4 (RP-A) इसे प्रतिलिपिकरण कारक या RFA प्रोटीन या यूकेरियोटिक S.S.B. कहते हैं ।
   (c) टोपोआइसोमरेज I
   (d) टोपोआइसोमरेज II
   (e) DNA पॉलीमरेज α जो यूकेरियोटिक प्राइमेज से सघनता से संलग्न होकर एक कॉम्पलेक्स बनाता है जिसे DNA पॉली α प्राइमेज कॉम्पलेक्स कहते हैं ।
   (f) DNAपॉलिमरेज δ
   (g) साइक्लिन (Cyclin) या PCNA (Proliferating cell nuclear antigen)
   (h) प्रतिलिपिकरण कारक C या RF(AT pase)
   इन आठ घटकों में से T एन्टीजन (Tag) ही एक ऐसा घटक है जो कि SV 40 से बंधित है ।

(4) T एन्टीजन में बन्धक डोमिन (domain) है इस डोमिन में AT pase और हेलीकेज सक्रियता होती है । Tag के द्‌वारा DNA प्रतिलिपिकरण के लिए अकुण्डलन कॉम्पलेक्स का समारम्भन करता है । टोपोआइसोमरेज DNA का अकुण्डलन करता है । RP-A या SSB अकुण्डलित DNA के सूत्र पर संलग्न हो जाती है ।

(5) RNA प्राइमर का संश्लेषण प्राइमेज करता है जो कि DNA पॉलिमरेज α के साथ सघनता से संलग्न होता है । DNA पॉलिमरेज α एक छोटा DNA अनुक्रम बनाता है जिसे i DNA कहते हैं यो 3-4 क्षारकों का बना होता है ।

(6) DNA के 3' सिरे पर RF-C जुड़ जाता है और DNA पॉलिमरेज α एवं PCNA को जोड़ने में सहायक होता है PCNA एवं RF-C दोनों ही DNA पॉलिमरेज को उद्दीपित करते हैं जिससे पॉलिमरेज α का स्थान पॉलिमरेज ले लेता है । DNA पॉलिमरेज DNA संश्लेषण को आरम्भ करता है जबकि DNA पॉलिमरेज δ दोनों स्ट्रेन्ड्स को लम्बित (elongate) करता है ।

(7) पॉलिमरेज α कॉम्पलेक्स प्रत्येक ओकाजाकी खण्ड के लिए RNA प्राइमर i DNA का संश्लेषण करता है।

DNA पॉलिमरेज α का एक अणु एवं DNA पॉलिमरेज δ के दो अणु DNA संश्लेषण में काम आते हैं ।

(8) MF1 (5'-3' एक्सोन्यूक्लिएज) RNA प्राइमरको हटाने का कार्य करता है तथा रिक्त स्थान को DNA पॉलिमरेज δ भरता है । DNA लाइगेज दो न्यूक्लियोटाइडों को जोड़कर खाली स्थान को भरता है ।

गुणसूत्री टीलोमरों का प्रतिलिपिकरण (Replication of telomeric Chromosome)

रेखीय DNA अणु के टीलोमरिक सिरे का प्रतिलिपिकरण DNA पॉलिमरेज नहीं कर पाता । इसका प्रतिलिपिकरण एक विशिष्ट एन्जाइम टीलोमरेज द्वारा होता है क्योंकि इसके अन्तिम सिरे पर पॉलिमरेजाइशेन के लिए 3-OH समूह उपलब्ध नहीं होता अत: यूकेरियोटिक कोशिकाओं में रेखीय गुणसूत्र के सिरे का प्रतिलिपिकरण एक विशेष क्रिया विधि द्वारा सम्पन्न होता है ।

टीलोमरेज एन्जाइम की क्रिया विधि की खोज सबसे पहले 1985 में कारोल ग्रीडर एवं एलिजाबेथ ब्लैकवर्न (Carol Greider and Elizabeth Blackburn) ने प्रोटोजोआ के अध्ययन के आधार पर की थी । टीलोमरेज 159 न्यूक्लियोटाइड लम्बा RNA है तथा इसको मनुष्य, यीस्ट व चूहे में भी पहचाना गया है ।

2.3 प्रोकेरियोट्स में डी.एन.ए. पॉलिमरेज (DNA Polymerase in prokaryotes)

तीन भिन्न प्रकार के डी.एन.ए. पॉलिमरेज ज्ञात हैं जैसे कि डी.एन.ए. पॉलिमरेज I,II और III, इनमें से डी.एन.ए. पॉलिमरेज 1 व 11 डी.एन.ए. रिपेयर में भाग लेते हैं जबकि डी.ए.न.ए. पॉलिमरेज 111 डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण में भाग लेता है । डी.एन.ए. पॉलिमरेज एन्जाइम सांचे (template) पर नये डी.एन.ए. स्ट्रेन्ड को संश्लेषित कर सकता है ।

(1) डी.एन.ए. पॉलिमरेज I (DNA Polymerase)

1960 में आर्थर कोर्नवर्ग (Arther Kornberg) ने डी. एन. ए. पॉलिमरेज I की खोज की । इसे कोर्नवर्ग एन्जाइम भी कहते हैं । पीटर एवं केयर्नस (Peter & Cairns1959) ने प्रमाण

प्रस्तुत किये कि DNA पॉलिमरेज I, डी.एन. ए. की रिपेयर में काम आता है तथा इसमें 5 सक्रिय स्थान (active sites) होते हैं । ie. Template site, primer site,5'-3'cleavage site, 3'-5' cleavage site and uncleosite triphosphate site IDNA पॉलिमरेज I दो खण्डों (Fragments) से मिलकर बना है पहला बड़ा खण्ड Klenow Fragmen,35 KDt) कहते हैं जो 3'-5' एक्सोन्यूक्लिएज क्रिया करता है दूसरा छोटा खण्ड Smaller fragment (38KD) जो 5-3' पॉलिमराइजिंग किया करता है । यह एन्जाइम RNA प्राइमर्स को ओकाजाकी खण्डों से अलग करता है तथा 5'-3' पॉलिमराइजिंग क्रिया के द्वारा रिक्त स्थान को भरता है । DNA पॉलिमरेज एकल पॉलिपेप्टाइड है इसका संश्लेषण Pol A जीन द्वारा नियन्त्रित होता है । इसका अणुभार 109,000 होता है ये एन्जाइम प्रूफरीडिंग भी करता है ।

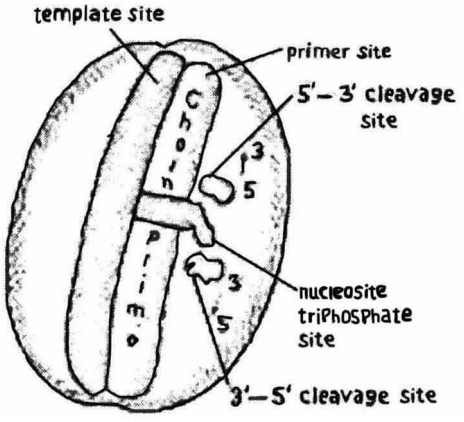


Fig.5 A model of DNA polymerase I enzyme, showing five different sites

(2) डी.एन.ए. पॉलिमरेज II (DNA Polymerase II)

1970-71 में E. coli से विलगित किया गया । ये प्रतिलिपिकरण में नहीं बल्कि RNA रिपेयर में काम आता है । मुक्त 3-OH समूह को प्रयोग में लेते हुए 5'-3' दिशा में वृद्धि कराता है इसका अणुभार 120,000 होता है ये एकल पॉलिपेप्टाइड हैं ।

इसमें 3'-5' एक्सोन्यूक्लिएज क्रिया तो होती हैं परन्तु 5'-3' एक्सोन्यूक्लिएज क्रिया का अभाव होता है ।

(3) डी.एन.ए. पॉलिमरेज III (DNA Polymerase III)

डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण में डी.एन.ए. पॉलिमरेज III (HE) हॉलोएन्जाइम (1972) एक महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है । कोशिका के अन्दर इस एन्जाइम की कमी होती है (केवल 10-20 अणु प्रति कोशिका) इसलिए इसकी रीसाइक्लिंग (recycling) तेजी से आवश्यक होती है ये 10 इकाईयों वाला हेटरोमल्टीमेरिक एन्जाइम है । ये 10 इकाईयों चार घटकों की बनी होती है।

(i) एक पॉलिमरेज कोर एन्जाइम (core enzyme) तीन उप इकाईयों का बना होता है α, ε और θ इन तीनों का एक -एक अणु मिलकर उप इकाई बनाता है ।

(ii) एक स्लाइडिंग क्लेम्प (Sliding clamp) एक डाइमर (β 2) का बना होता है

(iii) γ कॉम्पलेक्स जिसे मेचमेकर (matchmaker) भी कहते हैं 6 पोलीपेप्टाइड्स जिनमें 5 उपइकाई $(\gamma_2, \delta_1, \delta'_1, \gamma_1, \psi_1)$ का बना होता है ।

(iv) τ उपइकाई जोकि एक डाइमर की तरह काम आती है 2 ।

उत्प्रेरक कोर सांचे पर छोटे DNA खण्ड का संश्लेषण करती है । गुणसूत्र पर स्थित लम्बे DNA अणु के संश्लेषण के लिए इसका सांचे से तेजी से वियोजन होना आवश्यक होता है । Po उपइकाई डाइमर के रूप में होते हैं और यह सांचे सूत्र पर वलयाकार बंधन बनाकर खिसकता है । प्रतिलिपिकरण फोर्क पर नये स्ट्रेन्ड के संश्लेषण के लिए DNA पॉलिमरेज III उत्तरदायी होता है । इसका अणुभार >250,000 डाल्टन होता है ।

1.4 आर. एन. ए. प्राइमर (RNA Primer)

ऐसा कोई भी DNA पॉलिमरेज एन्जाइम ज्ञात नहीं जो बिना प्राइमर स्ट्रेन्ड के DNA संश्लेषण का प्रारम्भन कर सके । इसीलिए DNA प्रतिलिपिकरण प्रारम्भ होने से पहले RNA के छोटे खण्डों का निर्मित होना आवश्यक है । दो भिन्न प्रकार के एन्जाइम RNA प्राइमर का संश्लेषण करते हैं । पहला RNA पॉलीमरेज दूसरा प्राइमेज होता है । दोनों एन्जाइम के द्वारा 10-60 न्यूक्लियोटाइड लम्बा RNA प्राइमर बनता है । ये प्राइमर DNA के नए स्ट्रेन्ड के संश्लेषण के लिए मुक्त -OH समूह प्रदान करता है । ये RNA प्राइमर बाद में DNA पॉलीमरेज I की सहायता से हट जाते हैं और DNA से रिक्त स्थान भरता है । DNA प्रतिलिपिकरण में RNA प्राइमर एक महत्वपूर्ण भूमिका निभाते हैं ।

2.5 ओकाजाकी खण्ड (Okazaki Fragment)

ओकाजाकी (Okazaki) नामक वैज्ञानिक ने बताया कि डी.एन.ए. प्रतिलिकरण की क्रिया असतत्(discontinuous) होती है । इसकी पुष्टि स्वरेडियोग्राफिक (autoradigraphic) प्रयोगों में की गई ।

DNA पॉलिमरेज एन्जाइम DNA के 3'-5' पॉलिन्यूक्लियोटाइड श्रंखला के साथ 5'-3' दिशा में भी पॉलिन्यूक्लियोटाइड श्रंखला का निर्माण करता है । प्रतिकृति ध्रुवीयता के कारण पॉलिमरेज एन्जाइम केवल 5'-3' दिशा में ही DNA संश्लेषण कर सकता है । RNA पॉलिमरेज द्वारा DNA सूत्र पर प्रतिलिपिकरण के आरम्भन के लिए 5' सिरा चिन्हित करने के कारण प्रतिकृति ध्रुवीयता होती है । इसीलिए मूल DNA के दोनों सूत्रों पर नये DNA का संश्लेषण विपरीत दिशा में तथा खण्डों में होता है । ओकाजाकी के अनुसार इन खण्डों का निर्माण एक ही एन्जाइम करता है । 1000 से 2000 न्यूक्लियोटाइड वाले इन खण्डों को ओकाजाकी खण्ड (Okazaki fragment) कहते हैं । बाद में DNA लाइगेज एन्जाइम इन ओकाजाकी खण्डों को जोड़कर पॉलिन्यूक्लियोटाइड श्रंखला की निर्माण प्रक्रिया को पूरा करता है ।

2.6 डी.एन.ए. रिपेयर (DNA Repair)

प्रोकेरियोटिक और यूकेरियोटिक दोनों ही प्रकार की कोशिकाओं में क्षतिग्रस्त डी.एन.ए. की मरम्मत करने के लिए एक रिपेयर एन्जाइम तंत्र (repair enzyme system) होता है । डी.एन.ए. को क्षतिग्रस्त करने में जो परिवर्तन (changes) होते हैं उन्हें दो भागों में बांटा जा सकता है -

(i) एकक्षारीय परिवर्तन (Single base changes)

एक क्षार का दूसरे में बदलना । डीएमीनेषन के द्वारा 5- मिथाइलसाइटोसिन का थायमीन में बदलना ।

(ii) संरचनात्मक विकृति (Structural distortions)

ये एक सूत्रीय कटाव (nick) से, एक क्षार के हटने से या, एक या भिन्न स्ट्रेन्ड के क्षारों में सहसंयोजक बंध बनने के कारण होते हैं ।

कोशिका में क्षतिग्रस्त DNA को सुधारने के लिए निम्न विधियां पाई जाती हैं -

(1) प्रत्यक्ष सुधार (Direct repair)

(2) कर्तन सुधार (Excision repair)

ये दो प्रकार से होती है ।

(i) क्षार कर्तन सुधार (Base excision repair)

(ii) न्यूक्लियोटाइड कर्तन सुधार (Nucleotide excision repair)

(iii) बेमेल सुधार(Mismatch repair)

(1) प्रत्यक्ष सुधार (Direct repair)

इसमें एक तरह से DNA क्षति का उल्टा(reversal) होता है । असामान्य रसायनिक बन्धों जोकि क्षारकों या न्यूक्लियोटाइडों के मध्य होते हैं उनके टूट जाने पर पुन: मूल DNA की संरचना बनाना होता है

इसमें निम्न चार एन्जाइम मदद करते हैं ।

(i) DNA फोटोलाएज (NDA Photolyase)

ये एन्जाइम कुछ स्तनधारियों, बैक्टीरिया आदि में पाया जाता है । ये एन्जाइम साइक्लोब्यूटेन पिरिमिडिन डामरस को (CPD) रिपेयर करता है जो कि पराबैंगनी प्रकाश के कारण बन जाते हैं । दृष्य प्रकाश की ऊर्जा का उपयोग कर ये एन्जाइम साइक्लोब्यूटेन वलय को तोड़ (Split) देता है । यह एन्जाइम का विदलन कर DNA की संरचना में सुधार कर देता है । इसे प्रकाश निर्भर सुधार (Light dependent repair) भी कहते हैं ।

(ii) 6-4 फोटो उत्पाद फोटोलाएज (6-4 Photolyase)

ये एन्जाइम पराबैंगनी प्रकाश (UV) के कारण बनने वाले 6-4 फोटोउत्पाद को सुधारता है । इसमें एक तो पड़ौसी पिरिमिडिन के मध्य C4 - C6 बंध बन जाता है दूसरा एक पिरिमिडिन के C-4 का विकल्प (Substitute) दूसरे पिरिमिडिन के C-6 पर स्थान बदलने (Migrate) के कारण होता है । ये एन्जाइम इसे सुधार कर सामान्य क्षार बनाने में सहायक होता है ।

(iii) बीजाणु फोटो उत्पाद लाएज (Spore photoproduct lyase)

ये एन्जाइम क्षत भाग lesion को सुधारता है जो कि B. Subtilis Spores में पराबैंगनी प्रकाश के कारण होता है । ये एन्जाइम दो थायमीन के C-C बंध को तोड़ता है ये एक ऐसी क्रिया है जो प्रकाश पर निर्भर नहीं है ।

(iv) O^6- मिथाइलग्वानिन DNA मिथाइल ट्रासफरेज

(O6-methylguanin DNA methyal transferase) MGMT

(2) कर्तन सुधार (Excision repair) ये तीन चरणों में किया जाता है ।

(i) डी.एन.ए. सुधार एन्डोन्यूक्लिएज (DNA repair endonuclease) -

एन्डोन्यूक्लिएज युक्त एन्जाइम सम्मिश्रण क्षतिग्रस्त क्षारों को पहचान कर उनसे जुड़ जाता है तथा कर्तन कर उन्हें हटा देता हैं ।

(ii) डी.एन.ए. पॉलीमरेज पूरक स्ट्रेण्ड को टेम्पलेट के रूप में उपयोग कर खाली स्थान को सही न्यूक्लियोटाइड से भर देता है ।

(iii) लाइगेज एन्जाइम द्वारा कटे भाग को जोड़ दिया जाता है ।

कर्तन सुधार दो प्रकार से होता है-

(a) क्षार कर्तन सुधार (Base excision repair)-BER) -

इसमें रासायनिक रूप से रूपान्तरित' क्षार को डी.एन.ए. से हटा दिया जाता हे डी.एन.ए. ग्लाइकोसाइलेज डी.एन. ए. में डीएमीनेटेड क्षार ऑक्सीडाइजड क्षार या असामान्य क्षार को पहचान कर जुड़ने के बाद असामान्य क्षार तथा 2 - डीऑक्सीराइबोज के मध्य ग्लाइकोसिडिक बंध का विदलन कर देता है । इसमें एपिरिमिडिक स्थान (AP स्थल) उत्पन्न करता है जहां क्षार नहीं होता है । AP स्थल पर AP एन्डोन्यूक्लिएज तथा फास्फोडाइएस्टरेज एन्जाइम क्रिया कर शर्करा फॉस्फेट समूह को हटा देते हैं । खाली जगह पर DNA पॉलिमरेज पूरक स्ट्रेन्ड की विशिष्टता के अनुसार नया क्षार जोड देता है तथा कटाव को लाइगेज द्वारा जोड़ दिया जाता है ।

(b) न्यूक्लियोटाइड कर्तन सुधार(Nucleotide Excision Repair) - NER

इस प्रकार का सुधार थाइमीन डाइमर या अधिक बड़े असमान्य न्यूक्लियोटाइड समूह के सुधारने में उपयोग होता है । ई. कोलाई में ओक्सीन्यूक्लिएज क्रियाओं में तीन जीनों uvrA, uvrB तथा uvrC के उत्पाद काम में आते हैं । uvrA तथा uvrB प्रोटीन DNA के दोष वाले भाग को पहचान कर उससे ATP से ऊर्जा द्वारा संलग्न हो जाता है । uvrA मुक्त हो जाता है तथा uvrC प्रोटीन ubrB-DNA कॉम्पलेक्स के साथ संलग्न हो जाता है ।uvrB प्रोटीन 3' स्थल से क्षतिग्रस्त न्यूक्लियोटाइड के फास्फोडाइएस्टर बंध का विदलन करता है जबकि uvrC प्रोटीन 5' स्थल से क्षतिग्रस्त न्यूक्लियोटाइड के फारफोडाइएस्टर बंध का विदलन करता है । uvrD जीन का उत्पाद DNA हेलीकेज II उच्छेदित ओलीगोमर को हटा देता है । DNA पॉलिमरेज उचित न्यूक्लियोटाइडों का संश्लेषण करके रिक्त स्थान भर देता है एवं लाइगेज द्वारा बन्द कर दिया जाता है ।

(3) बेमेल सुधार (Mismatch Repair)

इसमें ऐसे क्षार युग्मन जो एक दूसरे के पूरक नहीं होते है उनका सुधार होता है । ये कुमेल या तो प्रतिलिपिकरण के दौरान या क्षार रूपान्तरण (डीएमीनेशन या ऑक्सीडेटिव क्षति) के कारण होता है । इन कुमेल सुधार में चार प्रोटीन Mute,MutS, MutU और MutH ई. कोलाई में है । निम्न जीन्स mutL, MutL, mutS, (uvrD तथा mutH के द्वारा कोडेड होते हैं ।

MutS प्रोटीन कुमेल को पहचान कर उसमें संलग्न हो जाता है और सुधार प्रक्रिया को प्रेरित करता है । MutH में GAT C विशेष एन्डोन्यूक्लिऐज क्रियाशीलता होती है यह GAT स्थल के 5' या 3' कुमेल से अमिथाइलेटेड स्ट्रेण्ड के हेमीमिथाइलेटेड भाग से विदलन कर देता है । कटान स्थान कुमेल भाग में 1000 या अधिक न्यूक्लियोटाइड हो सकते हैं । इससे आगे कर्तन के लिए MutS,MutL DNA हेलीकेज II (MutU) तथा उचित एक्सोन्यूक्लिएज की आवश्यकता होती है । जब कुमेल न्यूक्लियोटाइड हटा दिये जाते है तब DNA पॉलिमरेज खाली स्थान भरता है, लाइगेज इस कटान को जोड़ता है ।

जिनमें द्विस्ट्रेण्ड DNA पाया जाता है उन सभी जीवों में प्राय: कुमेल सुधार देखा जा सकता है ।

बोध प्रश्न

नोट: (i) प्रत्येक प्रश्न में छोड़ी गयी जगह का इस्तेमाल अपने उत्तर लिखने के लिए करें ।

(ii) अपने उत्तर इकाई के अन्त में दिये गये उत्तरों से मिलाए ।

प्रश्न 1 निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर दो ।

रिक्त स्थान भरो

1. डी.एन.ए. लाइगेज संश्लेषण के समय .....खण्डों को जोड़ता है ।
2. प्रोकेरियोटिक कोशिकाओं में. ... प्रकार के डी.एन.ए. पॉलिमरेज पाये जाते हैं ।
3. प्रतिलिपिकरण समारम्भ को..... और..... दो घटनाओं में बाँट जा सकता है ।
4. जिस टेम्पलेट डी.एन.ए. पर न्यूक्लियोटाइड का पॉलिमरेजाइशेन फोर्क की ओर सतत रुप से होता है, उसे .... स्ट्रेण्ड कहते हैं ।

प्रश्न 2 बहुविकल्पीय प्रश्न

निम्न में से सही उत्तर कोष्ठक में लिखें ।

1. अर्द्धसंरक्षी प्रतिलिपिकरण का प्रमाण सर्वप्रथम प्रस्तुत किया था -
   (a) ओकाजॉकी (b) मेसेल्सन एवं स्टाल (c) चारगाफ (d) ग्रिफिथ
2. डी.एन.ए. टोपोआसोमरेज II को कहते हैं-
   (a) हेलीकेज(b) डी.एन.ए. लाइगेज(c) डी.एन.ए.गायरेज(d) डी.एन.ए. पोलिमरेज।
3. ऑकाजाकी खण्ड की लम्बाई होती है-

(a) 100-200 न्यूक्लियोटाइड (b) 500- 1000 न्यूक्लियोटाइड

(c) 1-10 न्यूक्लियोटाइड (d) 1000-2000 न्यूक्लियोटाइड

4. निम्न में से कौनसा कथन सत्य है-

(a)कर्तन सुधार दो प्रकार के होते हैं। (b)कर्तन सुधार चार प्रकार के होते हैं।

(c)कर्तन सुधार सात प्रकार के होते हैं।(d)कर्तन सुधार तीन प्रकार के होते हैं।

प्रश्न 3 निम्नलिखित प्रश्नों का संक्षिप्त में उत्तर दो ।

1. डी.एन.ए. सुधार की दो विधियों के नाम लिखो ।

.....

2. डी.एन. ए. लाइगेज क्या कार्य करता है?

.....

3. पश्चगामी स्ट्रेण्ड किसे कहते हैं?

.....

1.7 सारांश (Summary)

डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण अर्द्धसंरक्षी क्रिया विधि से होता है । आनुवंशिक सूचनाएं जनक से संतति में जनक डी.एन.ए. अणु की प्रतिकृति के द्वारा जाती है । ये एक जटिल प्रक्रिया है । यूकेरियोट्स व प्रोकेरियोट्स दोनों में ही डी.एन.ए. प्रतिलिपिकरण पाया जाता है । गुणसूत्रों में एक विलक्षण उद्गम होता है जो सम्पूर्ण गुणसूत्र के प्रतिलिपिकरण को नियंत्रित करता है । प्रतिलिपिकरण में कई प्रकार के एन्जाइम्स व प्रोटीन भी आवश्यक होते हैं । डी.एन.ए. पॉलिमरेज लाइगेज हेलीकेज टोपोआइसोमरेज प्राइमर, एकल सूत्र बन्धन प्रोटीन आदि ।

क्षतिग्रस्त डी.एन.ए. को सुधारने के लिए कई क्रियाविधि होती हैं । इसमें कई एन्जाइम्स और प्रोटीन्स भी काम आते

1.8 शब्दावली (Glossary)

1. **हेलीकेज (Helicase) -** वो एन्जाइम जो DNA पूरक क्षार युग्मों के मध्य बनने वाले हाइड्रोजन बन्धों को तोड़ता है । जिसके कारण DNA प्रतिलिपिकरण के पहले DNA के दोनों स्ट्रेण्ड पृथक हो जाते हैं ।
2. **चिन्ह (Nick) -** DNA अणु को एक सूत्र में कटाव
3. **पोलीमर (Polymer) -** एक जैसे छोटे-2 अणुओं के संलग्न होने से एक बड़ा अणु बनना ।
4. **पॉलिमरेज (Polymerase) -** वो एन्जाइम जो DNA व RNA न्यूक्लियोटाइड्स को जुड़ने के लिए उत्प्रेरित करता है ।
5. **ओलीगोमर (Obigomer) -** एक छोटा बहुलक (polymer) जोकि प्राय: (50 सब इकाई से कम) अमीनोअम्ल शर्करा या न्यूक्लियोटाइड से बनता है ।
6. **प्राइमरेज (Primarase) -** एन्जाइम जो RNA ओलीगोन्यूक्लियोटाइड को बनाने में उत्प्रेरित करता है । ये DNA पॉलिमरेज द्वारा प्राइमर की तरह काम में लाया जाता है ।

7. **प्रतिलिपिकरण (Replication) -** जनन द्विकुण्डलिनी DNA के समान संतति द्विकुण्डलिनी DNA का संश्लेषण होना ।
8. **प्रतिलिपिकरण फोर्क (Replication Fork) -** Y आकार की संरचना जो एक प्रतिलिपिकरण DNA अणु का एक भाग होती है जहाँ पर दो पुत्री स्ट्रेण्ड बनते हैं व विलग होते है ।
9. **प्रतिलिपिकरण उद्गम (Replication origin) -** संश्लेषण में एक समारम्भन बिन्दु होता है जो द्विकुण्डलन फोर्क बनते हैं ।
10. **लाइगेज (Ligase) -** वो एन्जाइम जो ऊर्जा निर्भर क्रिया में दो अणुओं को जोड़ती है । जैसे कि डी.एन.ए. लाइगेज ।
11. **आइसोटोप (Isotope) -** एक तत्व के अलग रूप जो कि भिन्न अणुभार के होते हैं । जिनमें प्रोटीन समान संख्या में जबकि न्यूट्रान भिन्न संख्या में होते हैं ।
12. **यूक्रोमेटिन (Euchromain) -** क्रोमेटिन का वह भाग जो हल्का रंजित होता है ।
13. **एन्डोन्यूक्लिकयेज (Endonuclease) -** वो एन्जाइम जो न्यूक्लिक अम्ल के इंटीरियर फारफोडाइएस्टर बंधों का हाइड्रोलाइज करता है ।
14. **एक्सोन्यूक्लियेज (Exonuclease) -** वो एन्जाइम जो पॉलीन्यूक्लियोटाइड श्रंखला के 5' या 3' सिरे के न्यूक्लियोटाइड को अलग करता है ।

2.9 सन्दर्भ ग्रन्थ (Reference Books)

1. Molecular Biology- P.K. Gupta
2. कोशिका विज्ञान एवं आनुवंशिकी - शर्मा एवं शर्मा

2.10 बोध प्रश्न के उत्तर

प्रश्न 1

1. ऑकाजाकी
2. तीन
3. प्रीप्राइमिंग प्राइमिंग
4. अग्रगामी

प्रश्न 2

1. (b)
2. (c)
3. (d)
4. (a)

प्रश्न 3

1. डी.एन.ए. सुधार की दो विधियों के नाम हैं
   (1) कर्तन सुधार (2) कुमेल सुधार

2. डी.एन.ए. लाइगेज एन्जाइम पॉलिन्यूक्लियोटाइड खण्डों को जोड़ने का कार्य करता है । यह डी.एन.ए. संश्लेषण के समय ऑकाजाकी खण्डों को जोड़ता है ।

3. जिस टेम्पलेट डी.एन.ए. पर नये डी.एन.ए. स्ट्रेण्ड का संश्लेषण फोर्क से दूरस्थ और असंतत रूप में होता है; से पश्चगामी स्ट्रेण्ड कहते हैं ।

2.11 अभ्यासार्थ प्रश्न (Exercise Question)

प्रश्न 1 प्रोकेरियोटिक की DNA प्रतिकृति के विभिन्न चरणों का संक्षिप्त वर्णन कीजिए?

प्रश्न 2 निम्न पर संक्षिप्त टिप्पणियां लिखिए?

(1) DNA पॉलिमरेज III

(2) ऑकाजाकी खण्ड

(3) आर.एन.ए. प्राइमर

(4) कुमेल सुधार

प्रश्न 3 निम्न में अन्तर स्पष्ट कीजिए?

(1) संरक्षी एवं परिक्षेपी विधि

(2) डी.एन.ए. लाइगेज व डी.एन.ए. हेलीगेज

(3) अग्रगामी स्ट्रेण्ड एवं पश्चगामी स्ट्रेण्ड

(4) क्षार कर्तन सुधार एवं न्यूक्लियोटाइड कर्तन सुधार

प्रश्न4 DNA सुधार क्या है इसके विभिन्न प्रकारों का वर्णन कीजिए?

प्रश्न 5 यूकेरियोटिक DNA की प्रतिकृति समझाइये?

इकाई 3

राइबोज न्यूक्लिक अम्ल (आर.एन.ए.) संरचना एवं प्रकार (Ribose Nucleic Acid (RNA) Structure and Types)

इकाई की रूपरेखा

3.0 उद्देश्य

3.1 प्रस्तावना

3.2 आर. एन. ए.

3.2.1 आनुवांशिक एवं अआनुवांशिक आर.एन.ए.

3.2.2 आर.एन.ए. का वितरण

3.2.3 आर.एन.ए. के सघंठक तत्व एवं उनकी संरचना

3.2.4 आर.एन.ए. के प्रकार एवं संरचना

3.2.5 विभिन्न प्रकार के आर.एन.ए. की तुलना

3.3 सारांश

3.4 शब्दावली

3.5 संदर्भ ग्रन्थ

3.6 बोध प्रश्न

3.7 बोध प्रश्नों के उत्तर

3.8 अभ्यार्थ प्रश्न

3.0 उद्देश्य (Objective)

न्यूक्लिक अम्लों का अध्ययन जीव विज्ञान की कोशिका एवं आण्विक विज्ञान की शाखा के अन्तर्गत किया जाता है । यह सबसे महत्वपूर्ण शाखा मानी जाती है । न्यूक्लिक अम्ल दो प्रकार के होते है- DNAएवं RNA दोनों ही न्यूक्लियस में मुख्यत: मिलते है । ये जीवन की समस्त सूचनाओं के लिये जिम्मेदार होते है । इनमें DNA को अनुवांशिक पदार्थ कहा गया है । इसकी अनुपस्थिति में RNA अनुवांशिक अम्ल की तरह कार्य करता है तथा RNA के द्वारा अनेक आण्विक पदार्थो का प्रत्यक्ष एवं अप्रत्यक्ष संश्लेषण होता है । अत: इसके विस्तृत अध्ययन का उद्देश्य कोशिकीय क्रियाओं की विशेष जानकारी प्राप्त करना है जिनमें RNA' का प्रत्यक्ष एवं अप्रत्यक्ष योगदान रहता है ।

3.1 प्रस्तावना (Introduction)

सभी सजीवों में (प्रोकेरियोटिक एवं यूकेरियोटिक) अनुवांशिक सूचनाएं कूट भाषा में DNA में निहित होती है । कोशिका की विभिन्न अनुवांशिक रूप से नियन्त्रित सभी सूचनाएँ भिन्न प्रकार के न्यूक्लिक अम्ल RNA द्वारा नियन्त्रित रहती है । DNA गुणसूत्रों में उपस्थित रहता है

जबकि इसके द्वारा सभी क्रियाएँ कोशिकाद्रव्य में सम्पन्न होती है । DNA केन्द्रक में (यूकेरियोट्स में) ही रहता है, केन्द्रक को नहीं छोड़ता है । इसलिये कोशिकाद्रव्य में होने वाली प्रोटीन संश्लेषण की क्रिया का प्रत्यक्ष रूप से क्रियान्वित नहीं कर सकता है । अतः, यह अनुलेखन की क्रिया के द्वारा विभिन्न प्रकार के RNA का निर्माण करता है जो इन क्रियाओं को सम्पन्न करते है । RNA संश्लेषण में DNA एक टेम्पलेट की तरह कार्य करता है । आर.एन.ए. चार प्रकार के न्यूक्लियोटाइडों का बहुलक होता है । इसमें थाइमिन की जगह यूरेसिल नामक N_2-क्षार होता है । यह एक सूत्रीय कुण्डलीय संरचना युक्त है । यूकेरियोट्स में अलग-अलग प्रकार के RNA (r-RNA,m-RNA,t-RNA) का निर्माण केन्द्रिका के अन्दर DNA dependent- RNA Polymerase एन्जाइम की उपस्थिति में होता है । इसकी तीन श्रेणियाँ होती है, जो अलग-अलग प्रकार के RNA का संश्लेषण करने की क्रिया का उत्प्रेरण करते है । जैसे

(i) पोलीमरेज- I - r-RNA का संश्लेषण करता है

(ii) पोलीमरेज- II - m- RNA का संश्लेषण करता है

(iii) पोलीमरेज- III - t-RNA का संश्लेषण करता है

अनुवांशिक RNA जो कि पादप वाइरसो (जैसे-TMV) में मिलता है, अपना संश्लेषण स्वयं करता है । इनमें DNA का अभाव होता है ।

ये तीनों RNA पूर्ण एवं निर्धारित संरचना में तैयार होने के बाद, केन्द्रक छिद्रों से होकर कोशिकाद्रव्य में आ जाते है जहाँ ये अपना - अपना कार्य सम्पादित करते है । जैसे- r-RNA प्रोटीन संश्लेषण का स्थल (seat) राइबोसोम का मुख्य संगठक पदार्थ के रूप में जुड़ता है, m-RNA प्रोटीन संश्लेषण के लिए कूट भाषा में दिये गये संदेश, राइबोसोम तक लाता है तथा t-RNA प्रोटीन संश्लेषण में प्रयुक्त अमीरों अम्लों को, राइबोसोम तक स्थानान्तरित करने का कार्य करता है । इस प्रकार कोशिका द्रव्य में प्रोटीन संश्लेषण की क्रिया सम्पन्न होती है जो संरचनात्मक प्रोटीन, एन्जाइम प्रोटीन व संदेशवाहक प्रोटीन की तरह कार्य करती है ।

3.2 आर. एन. ए. (RNA)

3.2.1 आनुवांशिक व अआनुवांशिक आर.एन.ए.

डी.एन.ए. एवं आर.एन.ए. (राइबोन्यूक्लिक अम्ल) सजीव में मिलने वाले प्रमुख अनुवांशिक पदार्थ है उन्हें रसायनिक रूप से न्यूक्लिक अस्त कहा जाता है । ये जटिल संरचना युक्त होते है जो कार्बन, हाइड्रोजन, आक्सीजन, नाइट्रोजन एवं फास्फोरस से बने होते है । एफ. मिश्चर ने (1868) में सर्वप्रथम इनको पहचाना था । इन्होंने इनको मवाद की सफेद रक्त कोशिकाओं से प्राप्त किया तथा यह नाम इसलिये दिया कि ये प्रकृति में अम्लीय है एवं केन्द्रक से प्राप्त किये गये है, इसलिये न्यूक्लिक अम्ल नाम दिया गया । डी.एन.ए. एवं आर.एन.ए. न्यूक्लिक अस्त कहलाते है ।

आर.एन.ए. एक बहुलक है जो मुख्यत: दो प्रकार का होता है - (i) अनुवांशिक (Genetic) एवं (ii) अनुवांशिक (Non- Genetic)

(i) अनुवांशिक आर.एन.ए.

कुछ पादप वाइरसो जैसे - टोबैको मोजैक वाइरस (TMV), टरनिप यलो मोजैक वाइरस (TYMV), वुण्ड ट्यूमर वाइरस (WTV) आदि तथा कुछ जन्तु वाइरसों जैसे - इन्फ्लूएन्जा वाइरस, फुट एवं माउथ वाइरस,रॉस सारकोमा वाइरस, पोलियो वाइरस, रियो-वाइरस एवं बैक्टिरियोफेज आदि में DNA के समान ही आर.एन.ए. ही एक मात्र अनुवांशिक अन्त होता है । यह एक पोलीमेरिक न्यूक्लिक अम्ल है, जो चार प्रकार के न्यूक्ययोटाइडो से बना होता है । यह एक सूत्रीय होता है लेकिन अपवाद स्वरूप दोहरे सूत्रीय, लेकिन अकुण्डलीय संरचना युक्त भी मिलता है । उदाहरण - रिया-वाइरस । यह स्वत: प्रतिलिपिकरण करते है । यह अपनी रेप्लिका स्वयं निर्मित करते हैं । इसलिये इस प्रक्रिया को आर.एन.ए. निर्भर आर.एन.ए. संश्लेषण (RNA dependent RNA Synthesis) कहते है ।

(ii) अ-अनुवांशिक आर.एन.ए.

यह भी चार प्रकार के न्यूक्ययोटाइडो का ही बहुलक होता है । यह डी.एन.ए. युक्त कोशिकाओं में मिलता है लेकिन अनुवांशिक सूचनाओं का स्थानान्तरण नहीं करता है । यह केवल प्रोटीन संश्लेषण की क्रिया से ही सम्बन्धित रहता है । यह एक सूत्रीय होता है लेकिन t-RNA दोहरा सूत्रीय होता है लेकिन कुण्डलीय नहीं होता है ।

3.2.2 आर.एन.ए. का वितरण

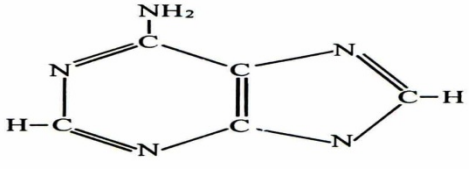
राइबो-न्यूक्लिक अम्ल कोशिकाद्रव्य व केन्द्रक दोनों में ही उपस्थित रहता है । कोशिका द्रव्य में यह m-आर.एन. ए r-आर.एन.ए., एवं t-आर.एन.ए. के रूप में उपस्थित रहते है । इसके अलावा यह माइटोकोन्ड्रिया एवं क्लोरोप्लास्ट में भी मिलता है । केन्द्रक में केन्द्रकद्रव्य गुणसूत्र एवं केन्द्रिका में मिलता है ।

3.2.3 आर.एन.ए. का संगठन एवं आणविक संरचना

दोनों ही प्रकार के आर.एन.ए. का रसायनिक संगठन समान होता है । ये चार प्रकार के न्यूक्लियोटाइडो का बहुलक होता है जो तीन प्रकार के तत्वों से मिलकर बनते है ।

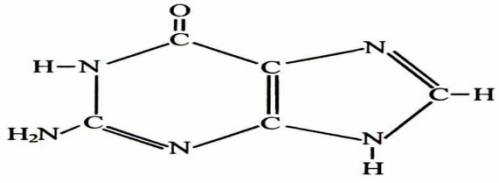
(i) N_2-क्षार : ये चार प्रकार के होते है- (a) एडेनिन (A), (b) ग्वानिन (G), (c) साइटोसिन (C), (d) यूरासिल (U) इनमें से प्रथम दो प्यूरीन बेस व दो पाइरीडिमिन बेस है । प्यूरीन्स में डबल रिंग, परन्तु पाइरीडिमिन्स एकल रिंग वाले होते है ।

(a) एडेनिन



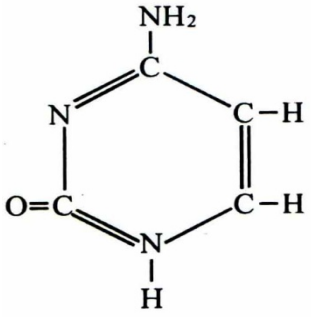
Adenine

(b) ग्वानिन



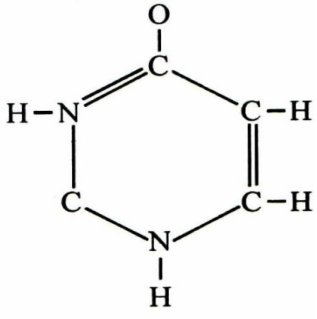
Guanine

(c) साइटोसिन



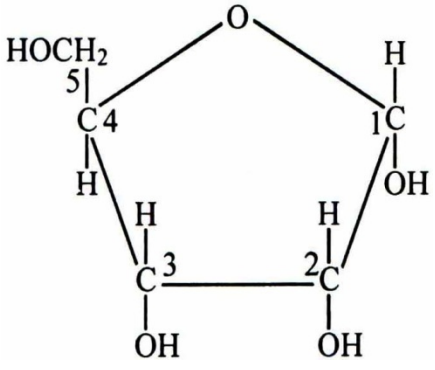
Cytosine

(d) यूरासिल

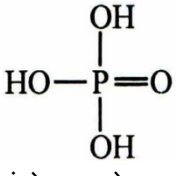


Uracil

(ii) पेन्टोज शर्करा : आर.एन.ए. में राइबोज पेन्टोज शर्करा होती है ।



(iii) फॉस्फेट अणु : यह फास्फोरिक अस्त के रूप में होता है।



पेन्टोज शर्करा, नाइट्रोजन क्षार के साथ संयोग करके न्यूक्लियोसाइड बनता है । न्यूक्लियोसाइड, फॉस्फेट अणु से संयोग करके न्यूक्लियोसाइड का निर्माण करते है इस प्रकार चार प्रकार के न्यूक्लियोसाइड्स बनाते है । जो निम्न तालिका में प्रदर्शित है

क्र.स.	क्षार	राइबोन्यूक्लियोसाइड	राइबोन्यूक्लियोसाइड	संक्षिप्त रूप
1	एडेनिन (A)	एडिनोसिन	एडिनिलिक अम्ल (एडिनोसिन मोनोफॉस्फेट)	AMP
2	ग्वानिन (G)	ग्वानोसिन	ग्वानिलिक अम्ल (ग्वानोसिन मोनोफॉस्फेट)	GMP
3	साइटोसिन (C)	साइटिडिन	साइटिडिलिक अम्ल (साइटिडिन मोनोफॉस्फेट)	CMP
4	यूरासिल (U)	यूरीडिन	यूरीडिलिक अम्ल (यूरीडिन मोनोफॉस्फेट)	UMP

ये चारो प्रकार के न्यूक्लियोटाइड केन्द्रक द्रव्य में स्वतन्त्र रूप से उपस्थित होते है लेकिन ये न्यूक्लियोसाइड ट्राइफॉस्फेट के रूप में (ATP, GTP, CTP, UTP) होते है । फास्फोडाएस्टर बन्ध बनने पर उच्च ऊर्जा वाले दो फॉस्फेट अणु मुक्त हो जाते है, तथा मोनोफॉस्फेट रूप में ही न्यूक्लियोटाइड रहते है ।

4-राइबोन्यूक्लियोसाइड-5-ट्राइफास्फेट +DNA $\xrightarrow{\text{RNA पोलीमरेज}}$
(n UPPP,nGPPP,nCPPP,nAPP) (टेम्पलेट) एन्जाइम

$(UP\text{-}GP\text{-}CP\text{-}AP)_n$ + DNA + U(n)PP-(RNA)

उपर्युक्त अभिक्रिया RNA के संश्लेषण (ट्रान्सक्रिप्सन) की प्रक्रिया को प्रदर्शित कर रही है । इसमें पेन्टोज शर्करा D-राइबोज व फॉस्फेट अणु RNA संरचना की रीडर बनाते है । जिससे चार N_2-क्षार जुड़ते है । N_2-क्षार व शर्करा के मध्य लें-ए ग्लाइकोसाइडिक बन्ध व शर्करा तथा फॉस्फेट अणु के मध्य फास्फोडाइएस्टर बन्ध बनता है । N_2-क्षारों के मध्य H-बन्ध बनते है । इसमें A व G के मध्य में दो बन्ध तथा U व C के मध्य तीन बन्ध होते है ।

प्यूरीन्स क्षार व शर्करा के मध्य कार्बन 1 तथा N-9 तथा पाइरीमिडिन क्षार में कार्बन 1 तथा N-3 स्थिति के मध्य ग्लाइकोसाइडिक बन्ध बनता है । शर्करा व फॉस्फेट अणु के मध्य 2', 5' स्थिति पर बन्ध बनता है जबकि DNA में यह 3'ए 5' स्थिति होती है ।

3.2.4 अ-अनुवांशिक आर.एन.ए. के प्रकार एवं संरचना

तीन प्रकार के कोशिकीय आर.एन.ए. खोजे गये है-

(i) राइबोसोमी - आर.एन.ए. (r-RNA)

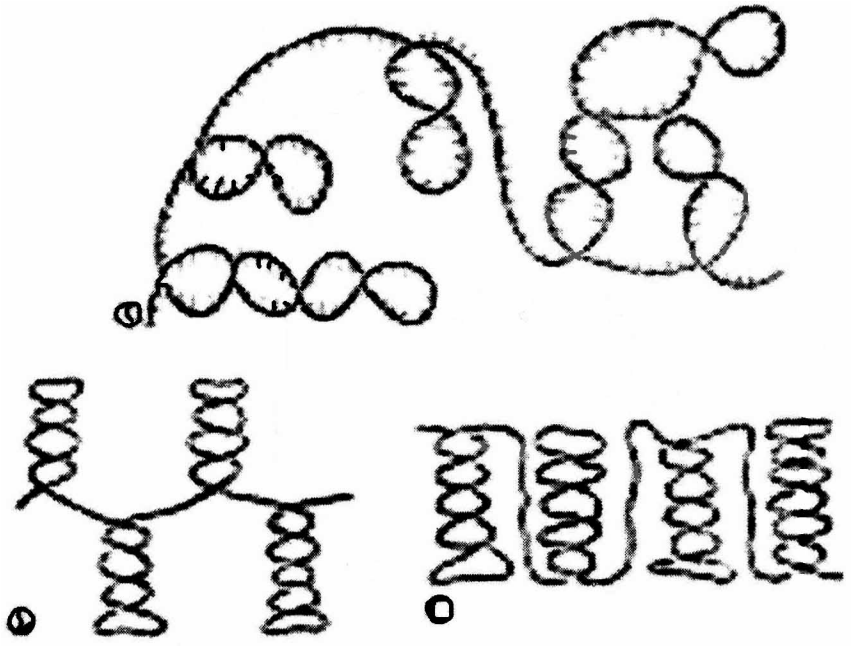
(ii) संदेशवाहक - आर.एन.ए. (m-RNA)

(iii) स्थानान्तरण-आर.एन.ए. (r-RNA) या विलयशील आर.एन.ए. (s-RNA)

(i) राइबोसोमी - आर.एन.ए. :

यह कोशिका में मिलने वाले राइबोसोम का मुख्य घटक होता है । यह कोशिका के आर.एन.ए. का लगभग 80% भाग होता है ।

इसका बेस का क्रम DNA के उस खण्ड के कोम्पलीमेन्ट्री होता है जहाँ यह संश्लेषित होता है । प्रोकेरियोट्स में इसका संश्लेषण DNA के राइबोसोमी DNA खण्ड पर होता है जबकि यूकेरियोट्स में इसका संश्लेषण केन्द्रिका के अन्दर होता है । r-RNA के क्षार क्रम अनेक भिन्न प्रकार के जीवों के राइबोसोम के क्षार-क्रम के बहुत कुछ समान होता है । यह एक सामान्य संरचनात्मक समानता प्रदर्शित करता है । इसकी संरचना आयनिक शक्ति,ताप व pH पर निर्भर करती है । यह एकल सूत्रीय संरचना होती है जो अपने ही ऊपर लिपटा हुआ होता है । हेलिक क्षेत्र में ज्यादातर क्षार युग्म कोम्पलीमेन्ट्री होते है तथा H-बन्ध द्वारा जुड़े रहते है । रेखिक संरचना में क्षार युग्मों के कोम्पलीमेन्ट नही होते है । इसीलिए RNA प्यूरीन-पीरिमिडिम साम्यता नही प्रदर्शित करता है ।



चित्र 1

r-RNA सूत्र गर्म करने पर खुल जाते है तथा ठण्डा करने पर सिमट (Folding) जाते है । यह लगभग दो सन्तति-पीढ़ियों तक स्थाई रहता है ।

प्रोकेरियोट्स के राइबोसोम की छोटी उपइकाई 30 S में 16 S r-RNA एवं बडी उपइकाई 50 S में 23 S व 5S r-RNA उपस्थित होता है । यूकेरियोट्स को राइबोसोम की छोटी उपइकाई-40S में 18S प्रकार का r-RNA एवं बडी उप-इकाई 60S में 28-29S, 5.8S,5S प्रकार का r-RNA होता है । अत: अवसादन गुणांक एवं आण्विक भार के आधार पर r-RNA तीन प्रकार के होते हैं।

	r-RNA के प्रकार	आणविक भार	न्यूक्लियोटाइडा की संख्या	प्रकार
(i)	उच्च Mw r-RNA	>मिलियन	3,000-5,500	21-29 S
(ii)	उच्च Mw r-RNA	< मिलियन	1,200-2,500	12-18 S
(iii)	निम्न Mw r-RNA	~ 40,000	~ 120	5 S

(ii) संदेशवाहक - आर.एन.ए. (M-RNA):

प्रोटीन संश्लेषण के लिये DNA द्वारा निर्देशित संदेशों को ले जाने वाले RNA को जैकब एवं मोनाड (1961) ने संदेशवाहक RNA नाम दिया । यह कुल कोशिकीय RNA का 5-10% भाग बनाता है । वैसे RNA लम्बाई व आणविक भार में अत्यधिक विभिन्नता मिलती है । लेकिन औसत आणविक भार 5,00,000 व अवसादन गुणांक 8 S होता है । इस पर N_2 क्षार से बने त्रिक कोडोन उपस्थित होता है । m-RNA की संरचना (m-RNA एक सूत्रीय होता है । इसमें क्षार-युग्मता नही मिलती है । यदि क्षार-युग्मता होती तो इसकी जैविक क्रियाएँ नष्ट हो जाती है । एक m-RNA का निर्माण विशेष जीन से ही होता है । अत: जितनी जीन होती है,

उतने ही m-RNA होते है । यह मोनोसिस्ट्रोनिक होता है । अपवाद स्वरूप पोलीसिस्ट्रोनिक भी होता है ।

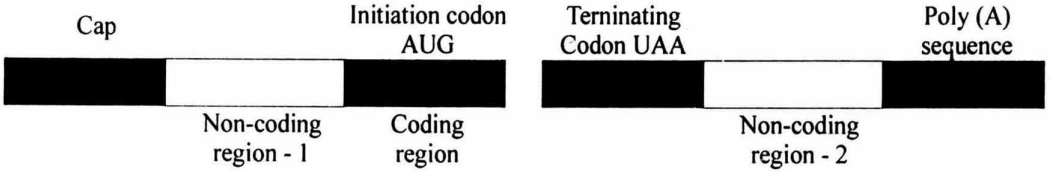
आवरण m-RNA अणु में संरचनात्मक

(i) Cap : यूकेरियोटिक कोशिकाओं में m-RNA के 5' सिरे पर "आवरण" होता है यह मैथिलीकृत संरचना होती, है। m^7-Gpp Nmp NP or m^7 Gpp Nmp NP जहाँ-

N = चार न्यूक्लियोटाइडों मे से कोई एक,

Nmp = 2'0 मिथाइल राइबोज

यूकेरियोटिक m-RNA के सामान्य लक्षण



प्रोटीन संश्लेषण के लिये "cap" का होना आवश्यक है क्योंकि यह m-RNA को राइबोसोम से दृढ़ता से जोड़ने में मदद करती है ।

(ii) Non -coding region 1(NC1): यह 10-100 न्यूक्लियोटाइडो का बना होता है इसमें A एवं U की अधिकता होती है । यह प्रोटीन संश्लेषण में भाग नहीं लेता है।

(iii) प्रारम्भिक-कोडॉन (The Initiation Codon) : यह AUG होता है । प्रोटीन संश्लेषण की क्रिया यहाँ से शुरू होती है ।

(iv) कोडिंग क्षेत्र (The Coding) : यह औसतन 1500 न्यूक्लियोटाइडो का बना होता है तथा प्रोटीन संश्लेषण की क्रिया में भाग लेता है ।

(v) टर्मिनेशल कोडॉन (Termination codon) : ये UAA, UAG,UGA होते है इनसे पोलीपेप्टाइड श्रृंखला का समापन होता है ।

(vi) नान-कोडिंग क्षेत्र - 2 (NC2) : यह 50-150 न्यूक्लियोटाइड्स युक्त होता है । यह प्रोटीन का अनुवाद (Translate) नही करता है ।

(vii) पोली (A) श्रृंखला (Poly A Sequence) :m-RNA के 3' सिरे पर 200-250 एडिनोसिन न्यूक्लियोटाइडो की श्रृंखला होती है ।

(iii) स्थानान्तरण - आर.एन.ए. (t-RNA) :

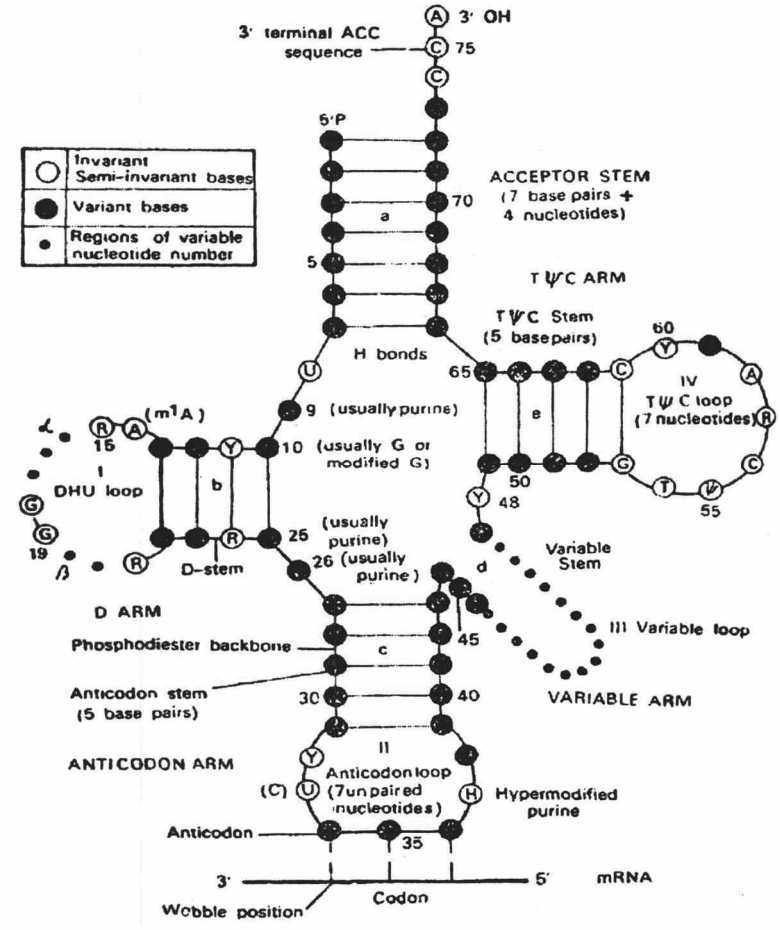
इसे विलयशील आर.एन.ए. भी कहते है । क्योंकि यह इतना छोटा होता है कि अल्ट्रा सेन्ट्रीप्यूज मशीन द्वारा 1,00,000g पर स्पन्दन किया जा सकता है । इसका आणविक भार 25,000 से 30,000 तथा अवसादन गुणांक 3.85 होता है ।

t-RNA, अमीनों अम्लों की प्रोटीन संश्लेषण की सीट - राइबोसोम तक स्थानान्तरण करता है । कोशिका में 20 अमीनों अम्ल होते है, अत: t-RNA भी कम से कम 20 तो होते ही है । इस प्रकार t-RNA, अमीनों अम्ल व m-RNA के मध्य एक 'एडेप्टर' की तरह कार्य करता है ।

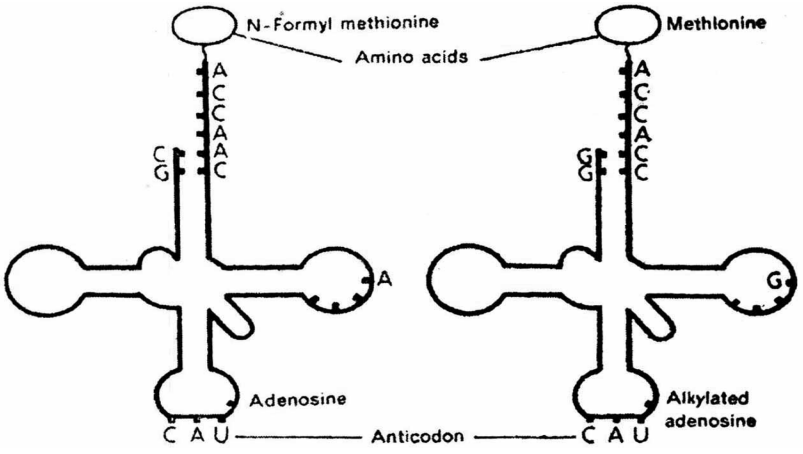
संरचना: t-RNA की प्राथमिक संरचना सर्वप्रथम होली व अन्य (1965) ने खोजा था । इन्होंने t-RNA का "लीफ क्लोवर' मॉडल प्रस्तुत किया था । इसमें 77 न्यूक्लियोटाइड्स होते है,

जिसमें 8A, 12U,25G,23C एवं 9 असंतृप्त मैथिलीकृत क्षार होते है । औसत आणविक भार 26,600 डाल्टन होता है ।

लीफ क्लोवर मॉडल के अनुसार एकल पाली न्यूक्लियोटाइड श्रृंखला स्वयं फोल्ड होकर 5 बनाती है ।



चित्र 2



चित्र 3

फोल्डिंग के कारण 3' व 5'-सिरे एक दूसरे के करीब आ जाते है । 3' सिरा C-C-A श्रृंखला तथा 5'-सिरा G या C न्यूक्लियोटाइड द्वारा समाप्त होता है । अनेक क्षार युग्मित या अयुग्मित होते हैं । प्रत्येक भुजा में एक स्तम्भ व लूप होता है । स्तम्भ दोहरी हेलिकायुक्त होता है जिसमें A-U व इसके बाद C-G क्षार युग्मन मिलता है । लूप भाग में क्षार युग्मन नही मिलता है । प्रस्तुत मॉडल मे निम्न भाग होते है -

(i) Aceptor arm (AA arm)

(ii) The T ψ C-arm

(iii) Variable-crm(V-arm)

(iv) Anti- codon arm (AC-arm)

(v) Dehydrourdine arm (D-arm)

(i) Acceptor arm : यह 3' एवं 5'-सिरे के न्यूक्लियोटाइडों में युग्मन से बनती है । यह भुजा केवल स्तम्भ से बनी होती है । यह मॉडल व शिर्षस्थ भाग बनाती है । इसमें 7 युग्मित व 4 अयुग्मित न्यूक्लियोटाइड होते है । इसमें 3'-सिरे पर अयुग्मित -C-C-A टर्मिनल न्यूक्लियोटाइड श्रृंखला होती है । चौथा अयुग्मित न्यूक्लियोटाइड वेरियबल (Aor,G) होता है चूँकि अमीनों अम्ल 3'-सिरे से ही जुड़ते है, अत: इसे "अमीनों अम्ल बाईन्डिंग" साइट भी कहते है ।

(ii) The T ψ C-arm : इस भुजा मे स्तम्भ व लूप दोनों होते है । स्तम्भ में 5 युग्मित न्यूक्लियोटाइड व लूप में 7 न्यूक्लियोटाइड होते है । स्तम्भ का सबसे बाहरी C-G-न्यूक्लियोटाइड होता है । यहाँ सिम्बल "ψ" से तात्पर्य "स्यूडो यूरीडिन क्षार" से है । यह घड़ी की दिया मे घूमने वाली भुजा होती है । t-RNA की इस भुजा का 5'-सिरा राइबोसोम से जुड़ता है । अत: यह 'राइबोसोम रिकॉगनिशन साइट" होती है ।

(iii) Variable arm : Tψ C इस के बाद यह भाग होता है । इसे 'लम्प" या 'मिनीलूप" या लूप III भी कहते है । यह दो प्रकार की होती है- प्रथम प्रकार मे 4-5 न्यूक्लियोटाइडों युक्त लूप होता है इसमें स्तम्भ का अभाव होता है । दूसरे प्रकार में 13-21 अवशेष होते है तथा लूप व स्तम्भ स्पष्ट विभेदित होते है ।

(iv) Anticodon arm : इसमें 5 क्षार युग्मों युक्त स्तम्भ व एक लूप होता है । इसे लूप II भी कहते है । इसे 7 अयुग्मित डक्लियोटाइड होते है । जिनमें मध्यके तीन "एन्टीकोडोन" बनाते है । यह भाग, m-RNA के तीन कोडोन्स को पहचानने का कार्य करता है । इसकी 3' साइड पर हाइपर मोडिफाइड प्यूरीन (H) होता है । जबकि 5' साइड पर U और एक पाइरीमिडिन Y होता है ।

(v) Dehydrouridine arm : इस भुजा में 15-18 न्यूक्लियोटाइड होते है । जिनमें स्तम्भ में 3-4 क्षार युग्म तथा लूप में 7-11 अयुग्मित न्यूक्लियोटाइड होते है । D भुजा का लूप-I या (DHU) कहलाता है । इसमें α व β परिवर्तनशील (वेरियबल' क्षेत्र होते है । इसमें

मुख्यत: पाइरीमिडिन डक्लियोटाइड होते है जिसमें उच्च DHU(dihydrouridine) अनुपात होता है । यह एक्टिवेटिंग-एन्जाइम-एमीनोएसाइल सिन्थेटेज से बन्धित रहती है ।

t-RNA का वर्गीकरण t-RNA की विभिन्न संरचनाओं का अध्ययन के आधार पर t-RNA को निम्न तीन वर्गो में बांटा गया है-

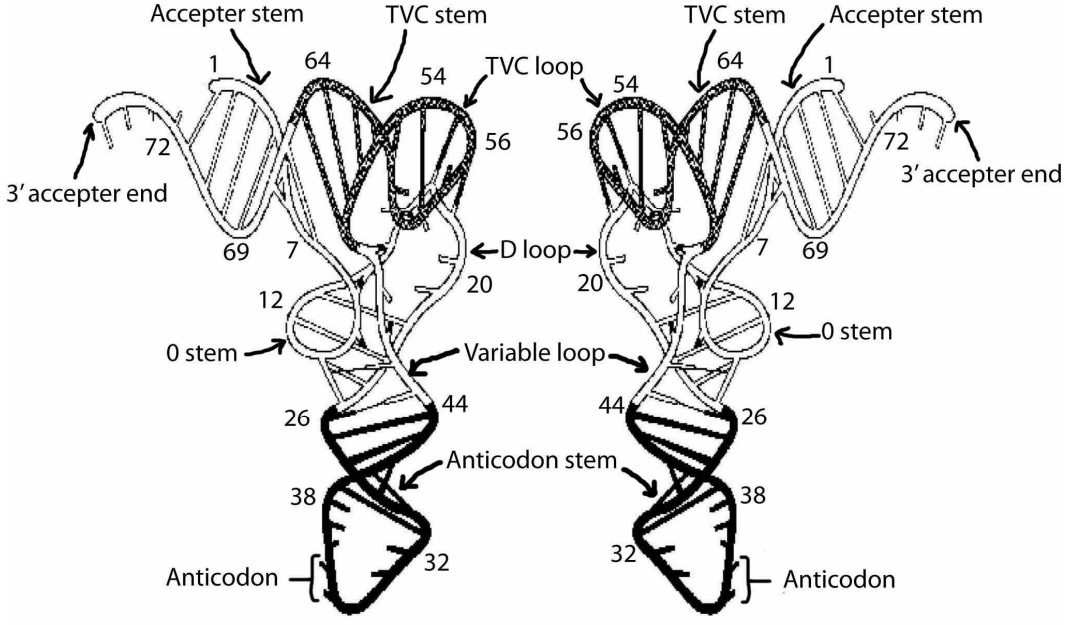
(1) क्लास-I (D_4-V_{4-5}) :D - स्तम्भ में 4 युग्मित क्षार व 4-5 क्षार वेरियबल लूप मे होते है।

(2) क्लास ना-II (D_3-V_{4-5}): D - स्तम्भ में 3 युग्मित क्षार व 4-5 क्षार वेरियबल लूप मे होते है।

(3) क्लास-III (D_3-V_n) : D - स्तम्भ में 3 युग्मित क्षार व एक विशाल वेरियबल भुजा होती है।

तृतीय संरचना (Tertiary Structure) : इलैक्ट्रॉन घनत्व मानचित्रों से यह स्पष्ट हुआ है कि t-RNA में H-बन्ध ये के कारण तृतीयक संरचना प्रदर्शित होती है । ये सम्बन्ध (a) क्षारों के मध्य (b) क्षारों तथा राइबो-फॉस्फेट बैकबोन के मध्य (c) बैकबोन अवशेषों के मध्य बनते है । (t-RNA अणु के स्तम्भ क्षेत्र की हेलिका के मध्य बने सम्बन्धों से बनी t-RNA संरचना को t-RNA की द्वितीयक संरचना माना जाता है ।)

t-RNA की तृतीयक संरचना पीस्ट के फिनाइलएलानिन t-RNA से प्रदर्शित होती है, जो लगभग L-आकृति की चपटी संरचना होती है।



चित्र-4

इसमें एक भाग एक्सेप्टर T ψ C स्तम्भ द्वारा तथा दूसरा भाग D भुजा एवं एन्टीकोडोन भुजा द्वारा बनता है । पोली न्यूक्लियोटाइड श्रृंखला में अवशेष 9,10 एवं 11 के पास तीव्र मोड होता है ।

t-RNA की संरचना के सामान्य लक्षण :

- सभी प्रकार के t-RNA में असामान्य न्यूक्लियोटाइड मिलते है ।
- A:U एवं G:C अनुपात लगभग इकाई होते है । इससे यह स्पष्ट होता है कि t-RNA में द्विकुण्डलित खण्ड बनते है ।
- A : U क्षार युग्मों की तुलना में G : C क्षार युग्म अधिक सामान्य होते है ।
- सभी t-RNA अणुओं की तृतीयक संरचना भी होती है ।
- प्रत्येक t-RNA अणु के 5-छोर पर ग्वानिन (G) अवशेष तथा 3'-छोर पर CCA अनुक्रम होता है। अमीनों अम्लों के 3-प्लॉट पर ही स्वीकार किया जाता है। ये तीनों न्यूक्लियोटाइड अयुग्मित होते है ।

3.2.5 विभिन्न प्रकार के RNAs की तुलना

S. No.		r-RNA	m-RNA	t-RNA
1	कोशिका के कुल RNA का प्रतिशत	- 80%	5-10%	10-15%
2	अवसादन गुणांक	28S,18S,5.8S,5S,23S, 16S,5S	8S	3.8S
3	न्यूक्लियोटाइडो की संख्या	5S RNA : 120 16-18S RNA:1600-2500 23-28S RNA:3200-5500	E. Coli : 900-1500	
4	आण्विक भार	23SRNA:1.1X10^5 30S RNA : 0.55X10^6	5,00,000	25,000-30,000
5	असामान्य क्षार	कम मात्रा मे	कम मात्रा मे	अधिक मात्रा मे
6	संश्लेषण की साइट	केन्द्रिका का मध्य भाग एवं DNA पर	केन्द्रिका का परिधीय भाग एवं DNA टेम्पलेट पर	केन्द्रिका के बाहर DNA टेम्पलेट पर
7	क्षार - DNA सम्बन्ध	बहुत कम DNA के एक छोटे खण्ड से बनता है	इसके क्षार, DNA के क्षार के कोम्पलीमेन्ट्री होते है	r-RNA के समान
8	कार्य	अयुग्मित क्षार, m-RNA व t-RNA को राइबोसोम से बाँधने में मदद करते हैं। राइबोसोम का मुख्य भाग	DNA द्वारा प्रेषित सन्देशो को प्रोटीन संश्लेषण के स्थल तक पहुँचाना	m-RNA व अमीनों अम्लों के मध्य एडेप्टर की तरह, अमीनों

		बनाते है।		अम्ल पूल से अमीनों अम्लों को प्रोटीन संश्लेषण की सीट तक स्थानान्तरित करना ।

3.3 सारांश (Summary)

RNA की संरचना व प्रकार के अन्तर्गत RNA के रसायनिक संगठन, प्रकार व इनकी संरचना के बारे में विस्तृत रूप से अध्ययन किया जाता है । RNA चार प्रकार के डक्लियोटाइडो से बनी एक सूत्रीय व अकुण्डलीय संरचना होती है लेकिन कुछ RNAs में दोहरी कुण्डलीय संरचना भी बनती है जिसका मुख्य कारण होता है क्षारों के मध्य बनने वाले H-बन्ध । चार N_2 क्षारों में दो प्यूरीन व दो पाइरीमिडिन होते है । प्यूरीन बेस हमेशा पाइरीमिडिन बेस से ही बन्ध बनता है । इनमें H-बन्ध होते है, N_2, क्षार व शर्करा में ग्लाइकोसाइडिक व शर्करा तथा फॉस्फेट अणु के मध्य फास्फोडाएस्टर बन्ध बनते है ।

RNA को अनुवांशिक व अआनुवांशिक श्रेणी में बाँटा गया है । जहाँ DNA का अभाव होता है वहाँ RNA ही एक मात्र अनुवांशिक अस्त होता है जबकि DNA के साथ अआनुवांशिक RNA होता है जो तीन प्रकार का होता है r-RNA, m-RNA, व t-RNA ये तीनों एक दूसरे से संगठन संरचनात्मक एवं कार्यात्मक रूप से भिन्न होते है । RNA की संरचना व संगठन के अध्ययन से कोशिका के कोशिका द्रव्य के संगठन व इसमें होने वाली विभिन्न जीव-रसायनिक अभिक्रियाओं के जैविक-संश्लेषण पथ, आधार, कार्य आदि के अध्ययन में मदद मिलती है । आजकल RNA का उपयोग जैव-प्रौद्योगिकी के द्वारा विज्ञान के अन्य क्षेत्रों में भी किये जा रहा है ।

3.4 शब्दावली (Glossary)

1. **RNA :** राइबोन्यूक्लिक अस्त जो अनुवांशिक व अआनुवांशिक दोनो प्रकार का होता हैं ।
2. **अनुवांशिक RNA :** इस प्रकार का RNA अनुवांशिक सूचनाओं के सन्तति पीढ़ियों में स्थानान्तरित करते है ।
3. **न्यूक्लिक अम्ल :** डीआक्सीराइबोडक्तिक अम्ल (DNA) एवं राइबोन्यूक्लिक अम्ल (RNA)
4. **न्यूक्लियोलस :** केन्द्रक मिलने वाली संरचना । यह सामान्यत: गुणसूत्र के द्वितीयक संकुचन से सम्बन्धित रहती है तथा RNA का संश्लेषण भी इसी पर होता है ।
5. **न्युक्लियोटाइड :** RNA या DNA का भाग । जो एक N_2-क्षार, पेन्टोज शर्करा व फॉस्फेट अणु से मिलकर बनता है ।
6. **एन्टीकोडोन :** त्रिक डक्लियोटाइडो की बनी संरचना जो t-RNA के लिये विशेषीकृत होती है।

7. **कोडोन :** m-RNA पर उपस्थित त्रिक डक्लियोटाइडो की संरचना, जो प्रोटीन संश्लेषण में प्रयुक्त होने वाले अमीनों अम्लों के लिये विशेषीकष्त होती है ।
8. **प्यूरीन** : N_2-क्षार जो DNA या RNA में मिलते है । ये एडेनिन एवं ग्वानिन होते है ।
9. **पाइरीमिडिन :** N_2- क्षार जो DNA/ RNA में मिलते है । ये थायमिन, साइटोसिन एवं यूरासिल होते है ।
10. **राइबोसोम :** झिल्ली रहित कोशिकाद्रव्यी संरचना जो प्रोटीन संश्लेषण की सीट होती है ।
11. **टेम्पलेट :** एक मॉडल, मोल्ड या तरतीब, DNA,RNA संश्लेषण के लिये टेम्पलेट की तरह कार्य करता है ।

3.5 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Books)

1. जीन विज्ञान Reference Books- - पी0 एस0 वर्मा एवं वी0के0 अग्रवाल
2. कोशिका विज्ञान Cell Biology - सी0 बी0 पावर
3. कोशिका विज्ञान Cell biology - डॉ0 वीरबाला रस्तौगी

3.6 बोध प्रश्न

नोट : 1. अपने उत्तर के लिए उपर्युक्त छोड़े गये स्थान का ही उपयोग करे ।
2. अपने उत्तरों का मिलान इकाई के अन्त में दिये गये उत्तरों से करे ।

प्रश्न1 बहुविकल्पीय प्रश्न उत्तर का चयन करे ।

1. किस वाइरस में दो सूत्रीय RNA होता है?
(अ)बैक्टिरियोफेज (ब)इन्फ्ल्यूएन्जावाइरस (स) TMV (द) रियोवाइरस
2. RNA की त्रिविमिय संरचना किसने प्रतिपादित की थी?
(अ)निम्न व अन्य (ब)वाटसर एवं विल्किन्स (स)ओकावा व खुराना (द)होली व अन्य
3. बैक्टीरिया व वाइरस से m-RNA की सर्वप्रथम किसने खोज की थी?
(अ) पोन्टेकीरवा (ब) स्वानसन (स) हक्सले (द) क्रिक
4. निम्न ने टार्मिनेटर कोडोन है -
(अ) AAA (ब) AUG (स) UAA (द) CCC

प्रश्न 2 रिक्त स्थान भरिये

1. थायमिन, साइटोसिन व यूरासिल.....क्षार होते है।
2. m-RNA हमेशा..... संरचना युक्त होता है।
3. N_2 क्षार व पेन्टोज शर्करा के मध्य..... बन्ध उपस्थित होता है।
4. t-RNA की प्राथमिक संरचना सर्वप्रथम.....ने ज्ञात की थी।

प्रश्न3 सत्य व असत्य बताइये -

1. TψC राइबोसोम रिकॉगमिशन साइट होती है । सत्य/असत्य

2. सबसे छोटी आकृति का RNA, r-RNA होता है । सत्य /असत्य

3. DNA की तुलना में RNA में असाधारण क्षार अधिक होते है । सत्य/असत्य

4. अधिकतर कोशिकीय RNA दोहरा सूत्रीय होता है । सत्य/असत्य

प्रश्न 4 निम्न प्रश्नों का संक्षिप्त में उत्तर दीजिये -

1. RNA के कितने प्रकार है?

.....

2. m-RNA एवं t-RNA के कोई दो अन्तर बताइये ।

.....

3. t-RNA का वर्गीकरण लिखिए ।

.....

4. RNA के कोई दो मुख्य लक्ष्ण जो DNA से भिन्न होते है ।

.....

3.7 बोध प्रश्नों के उत्तर

प्रश्न 1

1. द
2. अ
3. स
4. स

प्रश्न 2

1. पाइरीमिडिन
2. एकसूत्रीय
3. ग्लाइकोसाइडिक
4. होली एवं अन्य

प्रश्न 3

1. सत्य
2. असत्य
3. सत्य
4. असत्य

3.8 अभ्यासार्थ प्रश्न (Exercise Question)

प्रश्न 1 t-RNA की संरचना व वर्गीकरण का सचित्र वर्णन कीजिये ।

प्रश्न 2 विभिन्न प्रकार के RNAs का तुलनात्मक विवरण दीजिए ।

प्रश्न 3 RNA के संगठन व संरचना पर टिप्पणी कीजिए ।

प्रश्न 4 विभिन्न प्रकार के RNA की संरचना का वर्णन कीजिये ।

इकाई 4

जीन, जीन संगठन, जीन कॉनसेप्ट, न्यूक्लियोसोम, आभासी जीन, विच्छिन्न जीन एवं अतिव्यापी जीन

(Gene, Gene Organisation, Gene Concept, Nucleosome, Pseudogene, Interrupted gene & Overlapping Gene)

इकाई की रूपरेखा

4.0 उद्देश्य
4.1 प्रस्तावना
4.2 जीन
- 4.2.1 इतिहास
- 4.2.2 जीन संगठन
- 4.2.3 विच्छिन जीन
- 4.2.4 अविच्छिन जीन
- 4.2.5 अतिव्यापी जीन
- 4.2.7 जीन की अवधारणा
- 4.2.8 न्यूक्लियोसोम

4.3 बोध प्रश्न
4.4 सारांश
4.5 शब्दावली
4.6 संदर्भ ग्रन्थ
4.7 बोध प्रश्नों के उत्तर
4.8 अभ्यासार्थ प्रश्न

4.0 उद्देश्य (Objective)

विज्ञान की वह शाखा जिसमें जीन व जीन की संरचना का अध्ययन किया जाता है आधुनिक आनुवांशिकी (Modern Genetics) कहलाती है ।

4.1 प्रस्तावना (Introduction)

आधुनिक आनुवांशिकी का प्रारंभ 20 वीं सदी की शुरुआत से माना गया हैं । पिछले कुछ दशकों में इस क्षेत्र में अनेक उल्लेखनीय खोजे तथा महत्वपूर्ण कार्य हुए है । सट्टन एवं बोवेरी (Sutton and Boveri) (1902-03)ऐ ने सर्वप्रथम गुणसूत्र एवं जीन के मध्य संबध को स्पष्ट किया

और जीन के आनुवांशिकी संरचरण की इकाई होने की पुष्टि की । नील एवं रस्का (Knoll and Ruska) (1932) द्वारा इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के आविष्कार के साथ ही आनुवांशिकी के क्षेत्र में तेजी आई । ऐबेरी, मैक्लाउड तथा मैकार्टी (1944) ने न्यूमोनिया के जीवाणु पर किये गये अनुसंधान द्वारा प्रमाणित किया कि डी.एन.ए. वह पदार्थ है, जो आनुवांशिक गुणों हेतु उत्तरदायी हैं । 1962 में जे. डी. वाट्सन एवं एच.एफ.सी. क्रिक को डी.एन.ए. की संरचना हेतु नोबेल पुरस्कार से सम्मानित किया गया ।

बीडल एवं टैटम (Beadle and Tatum) (1958) ने "एक जीन एक एन्जाइम' की संकल्पना को प्रतिपादित किया कि जीन केवल आनुवांशिक संरचरण की इकाई ही नहीं हैं वरन् ये क्रियात्मक लक्षणों पर भी नियन्त्रण रखता है । पिछले 20-25 वर्षों में आधुनिक तकनीकी के विकास से आनुवांशिकी के क्षेत्र में अनेक क्रान्तिकारी खोजे हुई है, जिनमें जीन-पुनर्योजन, ट्रांसजीनिक पादप एवं जन्तु क्लोनिंग आदि मुख्य हैं ।

4.2 जीन (Gene)

मण्डल ने अपने प्रयोगों में यह निष्कर्ष निकाला था कि प्रत्येक जीव में, लक्षणों को निर्धारित करने वाले ' कारक' युग्म रूप में उपस्थित होते है । बोरी एवं सट्टन (1902) ने प्रमाणित किया कि वे 'कारक, जीन है । जीन गुणसूत्रों पर श्रृंखलाबद्ध रूप में पाये जाते है । यद्यपि जीवों में गुणसूत्रों की संख्या सीमित होती है परन्तु उन पर मिलने वाले जीन अनेक होते हैं । मनुष्य के 23 जोड़े गुणसूत्रों पर अनुमानित :30 से 40 हजार जीन उपस्थित होते है ।

पूर्व में जीन को केवल आनुवांशिक संचरण की इकाई माना जाता था । बीडल एवं टेटम (1958) ने कवकों पर अपने अध्ययनों द्वारा प्रमाणित किया कि प्रत्येक जीन एक विशेष एन्जाइम उत्पन्न करता है यह एन्जाइम एक विशेष जैव-रासायनिक किया को नियंत्रित करता हैं । अत: जीन आनुवांशिक संचरण की इकाई के साथ शरीर क्रिया (क्रियात्मक) की इकाई भी हैं । गुणसूत्र का वह छोटे से छोटा खण्ड जो संरचनात्मक विशेषक हेतु निर्धारित होता है, जीन कहलाता है ।

4.2.1 इतिहास (History)

दर्शनिकों विचारकों एवं शोधकर्ताओं द्वारा प्रस्तुत आरम्भिक धारणायें इस संदर्भ में किन्हीं प्रामाणिक तथ्यों पर आधारित न होकर मात्र कल्पनाएँ थी ।

पाइथोगोरस (Phythagoras) (500 BC) नामक ग्रीक दार्शनिक, जिनकी मृत्यु 500 वर्ष ईसा पूर्व हुई थी का मत था कि नर प्राणी के मस्तिष्क, तन्त्रिकाओं एवं देह के भागों में मैथुन के दौरान नम वाष्प निकलती है जिससे मादा के गर्भाशय में इसी प्रकार के अंग विकसित होते है।

एम्पिडॉक्लियस (Empedocles) इसी काल के अन्य ग्रीक दार्शनिक का मत पाइथोगोरस के मत से कुछ भिन्न था । इनके अनुसार भ्रूण निर्माण में दोनों जनक योगदान करते हैं । प्रत्येक जनक, वीर्य (semen) उत्पन्न करता है । यह देह के विभिन्न भागों से उत्पन्न होता है । वीर्य

के मैथुन के दौरान मिलने पर भ्रूण में दोनों जिनकों के लक्षणों का समावेश होता है । अत: शिशु में दोनों जिनकों के कुछ-कुछ लक्षण पाये जाते हैं ।

अरस्तु (Aristotle) नामक ग्रीक दार्शनिक ने लगभग 200 वर्षों के अन्तराल के उपरान्त अत्यन्त काल्पनिक मत प्रस्तुत किया जिसके अनुसार नर द्वारा उत्पन्न वीर्य रक्त से उत्पन्न होता है । यह अत्यन्त विशुद्ध अवस्था में होता है । मादाओं द्वारा स्रावित रजो-स्राव (menstral fluid) वीर्य से होता है किन्तु यह इतना शुद्ध नहीं होता जितना मनुष्य में उत्पन्न हुआ वीर्य होता है ।

17 वीं शताब्दी में **विलियम हार्वे (William Harvey, 1578-1657)** ने जिसे रक्त परिसंचरण की खोजों के लिये जाना जाता है ने चुम्बकीय शक्ति (Magnetic power) का मत प्रस्तुत किया । जिस प्रकार लोहे में चुम्बक के साथ घर्षण से, चुम्बक के गुण आ जाते हैं उसी प्रकार हा मैथुन के दौरान मादा के गर्भाशय में वृद्धि करना आरम्भ कर देता हैं । मानव वीर्य इस किया में गति देने का कार्य करता हैं ।

आर. डी. ग्राफ (R,de, Graaf,1673) ने संतति में माता-पिता दोनों के लक्षण हेतु प्रेशिण का सुझाव दिया कि आनुवांशिकता में माता व पिता दोनों का योगदान होता है ।

एन्टोन वान ल्यूवेनहॉक (Anton Van Leeuwenhoek) ने 1677 में मानव शुक्राणुओं का अध्ययन किया, एवं अण्डों के साथ उनके सहचार्य का सुझाव दिया । इनका मत था कि मादा के- अण्डे आ को पोषण एवं वृद्धि देते है एवं शुक्राणुओं को जीवन प्रदान करते है । वान बेयर (Van Baer 1828) ने स्तनधारियों में अणु का अध्ययन किया । 1694 में आर. केमेरियस (R,Cameratius) ने सर्वप्रथम पौधों में लैंगिक प्रजनन का वर्णन किया तथा दो भिन्न जातियों के पौधों से एक संकरण (hybrid) भी उत्पन्न होता है ।

फ्रान्सिसी वैज्ञानिक मॉपरशियस (Maupertius, 1698-1759) ने अनुजनन के सिद्वान्त को नकार दिया तथा विविक्ति या कणिकीय सिद्वान्त (particulate theory) प्रस्तुत की । इसके अनुसार दोनों जनक वीर्य उत्पन्न करते हैं जो सूक्ष्म कणों का बना होता है । मैथुन के दौरान इनके संयोग से भ्रूण बनता है ।

चार्ल्स बोनेट (Charles bonnet) ने 1720 में मॉपरशियस द्वारा प्रस्तुत सिद्वान्त को नकार दिया इनकी मान्यता थी कि कणयुक्त वीर्य से कार्बनिक कार्य की उत्पत्ति, जिससे प्राणी उत्पन्न हो सके असम्भव है ।

जे. बी. लैमार्क (J.B.Lamarck 1744-1829) ने बताया कि एक जीव के जीवन काल में उपार्जित लक्षण वंशागत होते है, इस धारणा को लेमार्कवाद (Lamarkesm) या उपार्जित लक्षणों का वंशागति सिद्धान्त (the theory of inheritance of acquired characters) कहते है।

चार्ल्स डार्विन (Charles Darwin 1809-1882) ने आनुवांशिकता के भौतिक आधार हेतु सुझाव दिया कि शरीर के प्रत्येक भागे में अत्यन्त छोटी अदृश्य कार्यो का निर्माण जनन काल में होता है जिन्हें मुकुलक (gemmules) अथवा पेनजनिस् (Pengenes) कहते है । ये काय रूधिर के साथ जनन अंगों में पहुँचती है ।

ए.वीजमान (A.weismann 1834-1914) ने चूहों की पूंछ को कुछ पीढ़ियों से काट कर पेनजीनवाद को नकारने हेतु प्रयोग कर सिद्ध कर दिखाया कि 22 पीढ़ियों के चूहों की पूंछ काटे जाने के बावजूद चूहों में पूंछ उत्पन्न होती है ।

सन 1900 में **हॉलैण्ड के ह्यूगो डी व्रीज (Hugo de vries), जर्मनी के कार्ल कोरेन्स (Karl Correns)** तथा **ऑस्ट्रिया के इरिक वॉन षैरमक (Erick Von Tschermak)** ने मेण्डल के नियमों की पुन: खोज की ।

1902 में **सट्टन तथा बोवेरी (Sutton and Boveri)** ने **गुणसूत्र सिद्वान्त** का प्रतिपादन किया ।

1902-1909 में **बेटसन (W.Bateson)** ने कई महत्वपूर्ण पदों जैसे **Genetics, allelomorph, homozygote, heterozygote,** F_1, F_2 (आनुवांशिकी, युग्मविकल्पी, समयुग्मनजी, विशमयुग्मनजी, प्रथम एवं द्वितीय संतानीय पीढ़ी) आदि पदों का गठन किया ।

1909 में **जॉहनसन (W. Johannsen)** ने भी कई महत्वपूर्ण पदों जैसे **Phenotype, Genotype, Gene** (लक्षणप्रारूप, जीनप्ररूप जीन) आदि का गठन किया ।

1910 में **मोर्गन (T.H.Morgan)** ने फलमक्खी **(Drosophila)** पर कार्य करते हुए **लिंग-सहलग्न (Sex-linked)** लक्षणों की जानकारी प्रस्तुत की 1933 में मोर्गन को **जीन थ्योरी (Gene theory)** प्रस्तुत करने के लिये नोबल पुरस्कार दिया गया ।

1941 में तथा बाद के वर्षों में **बीडल तथा टैटम (G.W.Beadle and E.L.Tatum)** ने **न्यूरोस्पोरा** कवक पर कार्य करते हुए 'एक जीन-एक एन्जाइम' सिद्धान्त प्रस्तुत किया । इसके लिये उन्हें 1958 में नोबल पुरस्कार दिया गया ।

1953 में वाटसन तथा **क्रिक (J.D. Watson and F.H.C. Crick)** द्वारा डी.एन.ए. (डी ऑक्सीराइबोन्यूक्लिक अम्ल) अणु के **द्विरज्जुकीय कुण्डलिनी मॉडल (Double stranded helical mode)** प्रस्तुत करने के पश्चात आनुवांशिकी के क्षेत्र में बहुत तीव्र गति से प्रगति हुई है । इन वैज्ञानिकों को उनके कार्य के लिये 1962 में नोबल पुरस्कार दिया गया ।

1959 में **जेकब तथा मोनोड ने (F. Jacob and J. Monod)** जीन सक्रियता का **ओपेरोन मॉडल (Operon model)** प्रस्तुत किया । इसे हेतु 1985 में उन्हें नोबल पुरस्कार दिया गया।

1988 में वाटसन **(J.M. Watson)** (डी.एन.ए. मॉडल वाले) के निर्देशन में **प्रोजेक्ट ह्यूमन जिनोम** (मानवीय संजीन परियोजना, **Project Human Genome)** का षुभारम्भ हुआ । **इस परियोजना का प्रमुख उद्देश्य मानव** जाति में **आनुवांशिकीय रोगों (Hereditary diseases) के जीनों की पहचान कर संबंधित रोगों से मानव को मुक्ति दिलाना है ।**

4.2.2 जीन संगठन (Organization of gene)

प्रोटीनों के अणु, जीनों के जिन क्षेत्रों के क्षारक क्रमों के आधार पर बनते हैं, उन्हें कोन क्षेत्र (coding region) कहा जाता है । कोडन क्षेत्र के आरम्भ में (5' छोर पर) अनुवादक आरम्भ कोडॉन (translation initiation codon) होता है, तथा इसके 3' छोर पर एक समापन

कोडॉन (termination codon) या (nonsense codon) अनर्थक कोडॉन होता है । किसी भी जीन में कोडन क्षेत्र के अलावा वे क्षेत्र होते हैं, जो अनुलेखन तथा अनुवादन में विभिन्न प्रकार्य करते है । इस वर्णन में केवल जीनों के कोडन क्षेत्रों के संगठन का विवरण है । विभिन्न जीनों के कोडन क्षेत्र निम्नलिखित प्रकार के संगठन प्रदर्शित कर सकते है: (1) अविच्छिन्न (uninterrupted) या सतत्, (2) अतिव्यापी (overlapping), (3) विच्छिन्न (interrupted), (4) वैकल्पिक (alternative) जीन, (5) जीन खण्ड (gene segments) एवं (6) आभासी जीन (pseudogene) ।

4.2.3 विच्छिन जीन (Interrupted Gene)

लगभग सभी यूकेरियोटों के जीनों के कोडन क्षेत्रों (coding regions) के बीच-बीच में अकोडन क्रम (noncoding sequinces) उपस्थित होते हैं । अत: विच्छिन्न जीनों के कोडन क्षेत्र तीन या अधिक खंडों में बटे होते हैं; इनमें से प्रत्येक खंड को एक्जॉन (exon) कहते है । दो एक्जानों के बीच में अकोडन DNA कूट उपस्थित होते हैं, जिन्हें इंट्रॉन (intron) कहा जाता है । इन जीवों में एक्जानों की संख्या, इंट्रॉनों की संख्या से एक अधिक होती है । एक जीन में इंट्रॉनों की संख्या केवल दो (मानव α एवं β ग्लोबिन, globin, जीन) से लेकर 60 से अधिक (मानव डिस्ट्राफिन dystrophin, जीन) हो सकते है ।

सर्वप्रथम विच्छिन्न जीन की खोज चैम्बडन (Chambdon) एवं सहयोगियों ने 1977 में की थी । उनके द्वारा कुक्कुट (chicken) के ओवैल्बुलिन (ovalbulin) जीन का विच्छिन्न जीन होना ज्ञात किया गया था । अब यह ज्ञात है कि यूकेरियोटों के केवल कुछ जीन, जैसे समुद्री अर्चिन (sea urchin) के हिस्टोन जीन, ड्रोसोफिला के चार ऊष्मा प्रधात जीन (heat shock genes), सतत् या अविच्छिन्न जीन पाए गए हैं । लेकिन निम्न यूकेरियोटों (lower eukaryotes), जैसे यीस्ट (खमीर) में लगभग 4 ही होते है । इस प्रकार, जीनों में इंट्रॉनों का होना न तो जरूरी है, और न ही हानिकारक । एक प्रस्तावना के अनुसार, सतत् जीनों का विकास (evolution) विच्छिन्न जीनों से ही हुआ है । इस धारणा के अनुसार, प्रोकेरियौटों में आरम्भ में विच्छिन्न जीन पाए जाते थे । बाद में जैविक विकास के दौरान प्रोकैरियोटों में से इंट्रॉनों का लोप होता गया, जबकि यूकैरियोटों में इंट्रॉन न केवल बने रहे, बल्कि कुछ जीनों में इनकी संख्या में वृद्धि भी हुई ।

विच्छिन्न जीनों (interrupted genes) के अनुलेखन (transcription) से प्राप्त RNA एक्जान एवं इंट्रॉन दोनों ही कम उपस्थित होते हैं; इस RNA को प्राथमिक अनुलेख (primary transcript) कहा जाता है । प्राथमिक अनुलेख m-RNA का प्रकार्य नहीं कर सकते, क्योंकि इनमें इंट्रॉन क्रम उपस्थित होते है ।

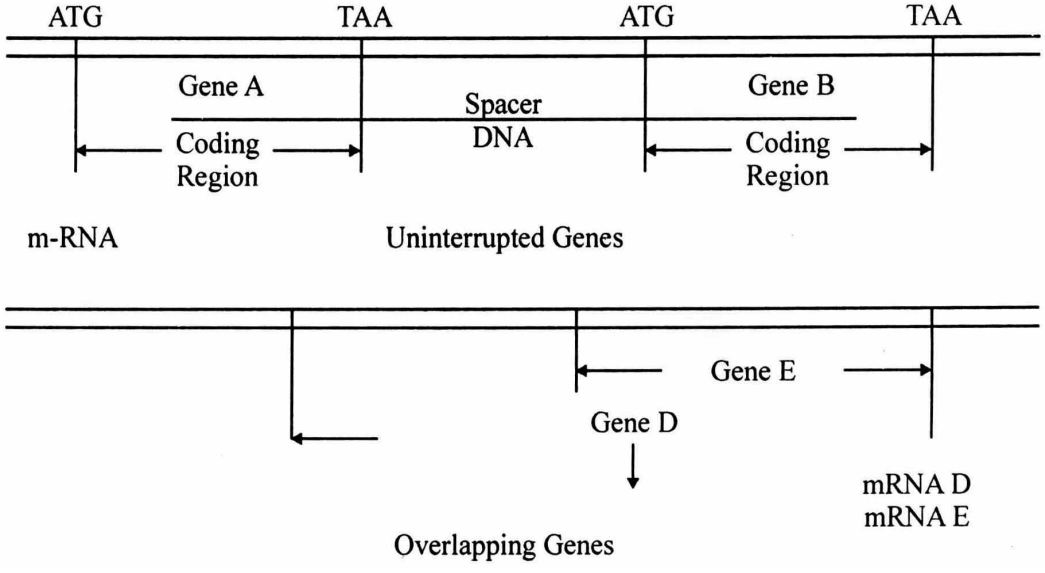
4.2.4 अविच्छिन जीन (Uninterrupted Gens)

अविच्छिन जीनों का कोडन क्षेत्र सतत् (continuous) होता है, और कोडन क्षेत्र में उपस्थित सभी क्षारक इन जीनों द्वारा उत्पादित m-RNA में उपस्थित होते हैं । प्रोकैरियोटों के लगभग

सभी जीन अविच्छिन होते हैं । सामान्यतया, प्रोकैरियोटों के जीन कई भिन्न समूहों में संगठित होते हैं, जिन्हें ओपेरॉन (operon) कहा जाता है । एक ही ओपेरॉन के जीनों की अभिव्यक्ति का नियमन (regulation) एक साथ होता है । यूकैरियोटों में, इसके विपरीत, प्रत्येक जीन एक अलग प्रक्रियात्मक इकाई होता है, और प्रत्येक जीन का नियमन स्वतन्त्र रूप से होता है ।

4.2.5 अतिव्यापी जीन (Overlapping genes)

साधारण, अगल-बगल स्थित जीनों के बीच में अंतरालक (spacer) DNA उपस्थित होता है, जो प्रत्यक्षत: कोई प्रकार्य नहीं करता है । इसके साथ ही, ये जीन अतिव्यापी (nonoverlapping) होते हैं लेकिन कई वाइरसों, जैसे जीवाणुभोजी (bacteriophage) MS2, X174 एवं SV40 में कुछ जीनों के कुछ क्षेत्र अतिव्यापी (overlapping) होते है । जब कोई एक DNA खण्ड दो या दो से अधिक जीनों के कोडन क्रम का भाग होता है, तो ऐसे जीनों को अतिव्यापी जीन कहते हैं । अत: एक ही DNA खण्ड द्वारा कोडित एमीनों अम्ल दो या अधिक प्रोटीनों में उपस्थित होते हैं । यह निम्नलिखित दो विधियों से हो सकता है ।



चित्र 1 - प्रोकैरियोटों में अविच्छिन्न (uninterrupted) अनतिव्यापी (nonverlaping) एवं अतिव्यापी (overlapping) जीनों का संगठन (organization) एक एक कोडॉन प्रदर्शित करता है । इन चिन्हों का उपयोग केवल पठन फ्रेम (reading frame) दर्शाने के लिए किया गया है, न कि कोडॉनों की संख्या बताने के लिए ।

4.2.6 आभासी जीन (Pseudogenes)

आभासी जीन सामान्य प्रकार्यात्मक जीनों से संबंधित (related), अधिकतर उनसे काफी मिलते-जुलते होते है, लेकिन इन जीनों के क्रमों का प्रोटीनों में अनूवादन संभव नहीं होता । अभासी जीन अक्रिय होते हैं, जिसका कारण निम्नलिखित में से एक या अधिक हो सकते हैं; (1) इनका अनुलेखन (transcription) नहीं हो पाता, (2) इनके RNA अनुलेखों का समबंधन (splicing)

नहीं हो पाता, और (3) इनके RNA अनुलेखों का अनूवादन नहीं हो पाता, क्योंकि उनमें जगह-जगह पर अनर्थक कोडॉन उपस्थित होते हैं । उदाहरण के लिए खरगोश के आभासी जी $\Psi\beta_2$ पड़, (ग्रीक अक्षर Ψ, psi, साई आभासी जीन, pseudogens का संकेत है, और β_2 वह गलोबिन जीन है, जिससे यह आभासी जीन, संबंधित है) के कोडन क्षेत्र में अनर्थक कोडॉन होता है, इसके इंट्रॉन-एक्जान जंक्सनों पर समबंधन के लिए आवश्यक क्रम नहीं पाए जाते, जिससे इसके RNA अनुलेख का समबंधन नहीं हो सकेगा, और अंततः इसका अनुलेख नहीं हो पाता है। आभासी जीन आज के सक्रिय जीनों के अक्रिय (inactive) रूप है । ये अक्सर जीन समूहों में पाए जाते हैं, जहाँ वे अपने सक्रिय संबंधियों के अगल-बगल स्थित होते हैं । आभासी जीनों की उत्पत्ति निम्नलिखित प्रकार से हो सकती है । एक प्रकार्यात्मक सक्रिय जीन, जैसे β-ग्लोबिन जीन, का द्विगुणन (duplication) होता है, जिससे अब जिनोम में इस जीन की एक के स्थान पर दो प्रतियाँ उपस्थित होती हैं । अब इन दोनों प्रतियों में से किसी एक में कोई ऐसा उत्परिवर्तन होता है, जिससे β-ग्लोबिन जीन की यह प्रति अक्रिय हो जाती है । यह उत्परिवर्तन उस जीव के लिए हानिकारक नहीं होगा, क्योंकि उसमें इस जीन की एक सक्रिय प्रति अभी भी मौजूद है । इसके बाद β-ग्लोबिन जीन की इस अक्रिय प्रति में अन्य उत्परिवर्तन एकत्रित होते रहते हैं, क्योंकि इन उत्परिवर्तनों के विरूद्ध कोई वरण नहीं होता है (क्योंकि जिनोम में इस जीन की एक सक्रिय प्रति उपस्थित होती है) ।

कई आभासी जीनों का सामान्य संगठन विच्छिन्न (interrupted) जीनों के ही समान होता है, अर्थात् इनमें इंट्रॉनों एवं एक्जानों के समान क्रम होते हैं । लेकिन कई आभासी जीनों में इंट्रॉन नहीं पाए जाते और वे संबंधित परिपक्व m-RNA अणुओं के समान हो हैं, ऐसे जीनों को प्रसंस्कष्त आभासी जीन (processed pseudogene) कहते हैं । प्रसंकष्त आभासी जीनों की उत्पत्ति m-RNA के प्रतिलोम अनुलेखन (reverse transcription) द्वारा हुई मानी जाती है । इस प्रकार प्राप्त m-RNA का c-DNA (complementary) पूरक DNA कोशिका के जिनोम में समाकलित (integrate) हो जाता है । प्रसंस्कृत आभासी जीनक का एक उदाहरण मूषक का Ψα3 ग्लोबिन जीन है ।

4.2.7 जीन की अवधारणा (Concept of Gene)

वैज्ञानिक डब्ल्यू जोन्हेनसन (W. Johansen) ने जीन (gene) शब्द इन कारकों (Factors) के लिये ही दिया । इसी शब्द से आनुवांशिकी (genetics) की उत्पत्ति हुई । इन्होंने जीन को आनुवांशिकी की एक मात्र इकाई के रूप में प्रस्तुत किया । वैज्ञानिकों द्वारा किये गये बाद के अध्ययनों से इस बारे में और अधिक जानकारी प्राप्त हुई, जिसके अनुसार जीन्स गुणसूत्रों पर लम्बाई में रेखीय व्यवस्था के रूप में उपस्थित होते हैं । आरम्भ में जीन को आनुवांशिकता की अविभाज्य परिकल्पित इकाई माना जाता था । आधुनिक आनुवांशिकी के अन्तर्गत यह प्रमाणित किया जा चुका है कि जीन डी.एन.ए. (Deoxyribonucleic acid) से बनी रचना होती है । यह भी सत्य है कि डी.एन.ए. अणु लम्बाई में बहुत बड़ा होता है । इसके निर्माण में असंख्य

न्यूक्लिओटाइड भाग लेते हैं । एक जीन डी.एन.ए. के सम्पूर्ण अणु के या इसके छोटे के अंश के अथवा एक से अधिक डी.एन.ए. अणुओं के तुल्य (equivalent) होती है । सूक्ष्मजीवों (microbes) पर किये गये आनुवांशिकी के प्रयोगों से यह सिद्ध किया जा चुका है कि पुन: संयोजन (recombination), उत्परिवर्तन (mutation) एवं एक कार्यकारी (functional) अर्थात लक्षण प्रारूप उत्पन्न करने वाली इकाई अलग-अलग होती हैं । डी.एन.ए. अनेक न्यूक्लिओटाइड्स से बना होता है तथा न्यूक्लिओटाइड के निर्माण में एडीनीन ग्युएनीन, थाइमीन व साइटोसिन प्यूरीन व पिरिमिडीन नाइट्रोजन क्षारक भाग लेते हैं । सभी जीवों के डी.एन.ए. में एक मात्र भिन्नता इन नाइट्रोजन क्षारकों के अनुक्रम (sequence) में ही पायी जाती है । जिन्हें हम उत्परिवर्तन (mutation) कहते है, एवं डी.एन.ए. के जिस अंश में न्यूक्लिओटाइड के क्रम में परिवर्तन के कारण यह क्रिया होती है, इसे उत्परिवर्तनात्मक जीन (mutational gene) कहते है । सेमूर बेन्तर (Seymour Benzer) के अनुसार जीन सिस्ट्रान, रेकान एवं म्यूटॉन उप इकाईयों में विभक्त की जा सकती है ।

सिस्ट्रान (Cistron) - बेन्जर ने विभोजी (Phage) T_4 द्वारा एशरिशिआ कोलाई (E.Coli) पर लयन (lysis) किये जाने के प्रयोग किये । T_4 विभोजी ई. कोलाई को संक्रमणित करता है तो ई. कोलाई का लयन होता है अत: जिन एगार प्लेटों पर ई. कोलाई का संवर्धन करा कर परीक्षण करते हैं उसे स्वच्छ निवही क्षेत्र जिन्हें प्लाक्स (plaques) कहते है । T_4 विभोजी वन्य प्ररूप (wild type) r^+ व उत्परिवर्ती विभेद (mutatnt type) r^- प्रकार के प्रयोग में लाये गये । लयन के दौरान वन्य प्ररूप द्वारा बने क्षेत्र बड़े होते हैं । जिनके किनारे नुकीले होते है ।

म्यूटॉन (Muton) - इसे उत्पाणु भी कहते हैं । एक डी.एन.ए. में किसी भी एक न्यूक्लिओटाइड के युग्म में परिवर्तन हो जाने से m-RNA भी परिवर्तित प्रकार का बनेगा, जो संदेश भी अमीनों अम्लों हेतु परिवर्तित प्रकार के लेकर कोशिकाद्रव्य में प्रोटीन संश्लेषण स्थल तक पहुंचेगा । एक सिस्ट्रॉन में अनेक उत्परिवर्तन स्थल हो सकते हैं । इन उत्परिवर्तनशील स्थलों को ही बेन्जर ने म्यूटॉन नाम प्रदान किया है । इनके अनुसार "म्यूटॉन" डी.एन.ए. के एक क्षारक युग्म का भी बना हो सकता है अथवा अधिक से भी । बेन्जर ने ई. कोलाई के ट्रिप्टोफॉन संश्लेषण तन्त्र से सम्बद्ध उत्परिवर्तियो का अध्ययन किया ।

रैकान (Recon) - "यह डी.एन.ए. की वह सबसे छोटी इकाई है, जिसमें पुनर्योजन (recombination) हो सकता है, इसे पुनराणु अथवा रैकान कहते हैं ।" एक सिस्ट्रान में दो विस्थलों के बीच पर्याप्त दूरी हो तो इनमें विनियम (crossing over) या पुनर्योज की क्रिया हो सकती है । सूक्ष्मजीवों पर किये गये अध्ययनों के अनुसार एक रैकान में दो अथवा एक न्यूक्लिओटाइड युग्म उपस्थित होता है ।

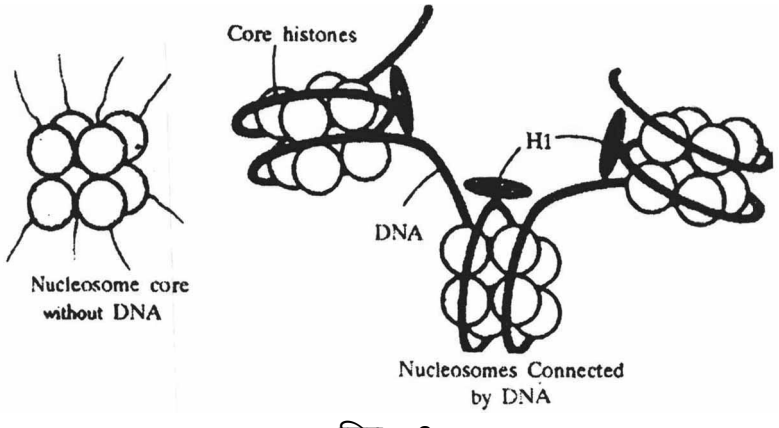
1.2.8 न्यूक्तलओसोम अवधारणा (Nucleosome concept)

यूकेरियोटिक कोशिकाओं में प्रत्येक गुणसूत्र एक लम्बे, डी.एन.ए. के द्वि-कुण्डलन अणु तथा सम्बन्धित प्रोटीन्स से बना होता है । ये प्रोटीन्स हिस्टोन व नान हिस्टोन प्रकार के होते है । हिस्टोन प्रोटीन 5 प्रकार के नान हिस्टोन प्रोटीन 10-20 प्रकार के पाये जाते है । जब केन्द्रक

से क्रोमेटिन का उचित परिस्थितियों में निष्कर्षण (extraction) किया जाता है तो यह इलेक्ट्रॉनसूक्ष्मदर्शी से अध्ययन किये जाने पर 10.nm व्यास के तन्तु के रूप में दृष्टिगत होता है । यह तन्तु मोती या मनकों की माला समान (beaded fibre) दिखाई देता है । इस तन्तु पर उपस्थित ये मोती समान रचनाएँ जो पुनरावर्ती (repeating) कणों के रूप में उपस्थित होती है एवं एक सतत् तन्तु बनाती है । ओदेत एवं साथियों (Oudet et al, 1975) ने इन कणों को न्यूक्लओसोम (nucleosome) या केन्द्रकाम नाम दिया । DNA एन्जाइम द्वारा क्रिया करने पर क्रोमेटिन का प्रारम्भ से उन स्थलों पर विखण्डन होता है, जहाँ यह न्यूक्लिओसोम इकाईयाँ पायी जाती है केन्द्रिकाभ या न्यूक्लिओसोम के भीतर की स्थिति या संगठन में कोई परिवर्तन नहीं होता ।

प्रत्येक केन्द्रिकाभ (nucleosome) में DNA के 200 न्यूक्लिओटाइड युग्म एक ओक्टामर (octomer) के साथ संलग्न रहता है जो आठ (8) हिस्टोन प्रोटीन अणुओं से बना होता है । इन आठ हिस्टोन अणुओं में H_2A,H_2B & H_3 के प्रत्येक के दो-दो अणु तथा एक-एक अणु H_4 व H_1 प्रोटीन का होता है ।

DNA तन्तु ओक्टामर की कोर (core) पर लिपटा रहता है तथा 2 पूर्ण व्यावर्तन (twist) कर H_1 द्वारा स्थिर अवस्था में बना रहता है । कुछ नॉन-हिस्टोन प्रोटीन भी न्यूक्लिओसोम से जुड़े रहते है । ये पूर्णकालिक अवयव होते है । अथवा अंशकालिक, यह ज्ञान नहीं हो सका है । आधारिक रूप से यह 10nm मोटाई का तन्तु एक चक्र में 6-7 न्यूक्लिओसोम के चक्कर लगाता हुआ उपस्थित होता है । इस रचना को सोलेनॉइड (solenoid) कहते हैं । सोलेनॉइड का व्यास 30nm होता है । एक न्यूक्लिओसोम का व्यास 11nm तथा लम्बाई 5.5nm होती है । सोलेनाइड के मध्य न्यूक्लिओसोम रहित DNA व नॉन हिस्टोन प्रोटीन पाये जाते हैं । यह DNA न्यूक्लिओसोम 5-6 गुना तथा सोलेनॉइड 15-40 गुना छोटा होकर संकुलित (packed) अवस्था में बना रहता है । कोशिका चक्र की विभिन्न अवस्थाओं में यह संकुलन भिन्न स्तर का होता है, मेटाफेज अवस्था में DNA का संकुलन 7000 गुना होता है । इसके लिए केन्द्रिकाभ अनेक वलयों (loops) में संगठित बने रहते हैं एवं एक केन्द्रीय नॉन-हिस्टोन प्रोटीन द्वारा परस्पर संलग्न होते है ।



चित्र - 2

4.3 सारांश (Summary)

प्रत्येक जीन न्युक्लियोटाइड का विशेष क्रम होता है जो कि फॉस्फेट, डी-ऑक्सीराइबोस शर्करा व नाइट्रोजिनस क्षार का बना होता है । जीन आनुवांशिकी लक्षणों के संचरण की इकाई होती है । ये पीढ़ी दर पीढ़ी गुणों के संचरण का कार्य करती है । यह उत्परिवर्तन व पुर्नसंयोजन की भी इकाई होती है । जिसके द्वारा जीवों में नये लक्षण व विभिन्नताएं उत्पन्न होती है । प्रत्येक जीन तीन उप इकाईयों में बटा होता है जिन्हें सिस्ट्रॉन, रेकॉन व म्यूटॉन कहते है । सिस्ट्रॉन जीन की क्रियात्मक इकाई है जबकि रेकॉन पुर्नसंयोजन की इकाई है तथा म्यूट्रान उत्परिवर्तन की इकाई मानी जाती है ।

4.4 शब्दावली (Glossary)

जीन (Gene) : गुणसूत्र का छोटे से छोटा खण्ड जो कि आनुवांशिकी लक्षणों का पीढ़ी दर पीढ़ी संचरण में सहायक हो, जीन कहलाता है ।

सिस्ट्रॉन (Cistron) : जीन की क्रियात्मक इकाई सिस्ट्रॉन कहलाती है ।

रेकॉन (Recon) : जीन की पुर्नसंयोजन इकाई रेकॉन कहलाती है ।

म्यूटॉन (Muton) : जीन की उत्परिवर्तन इकाई म्यूटॉन कहलाती है ।

अतिव्यापित जीन (Overlapping Gene) : जीन के मध्य में उपस्थित अन्तराल डी.एन.ए. खण्ड अतिव्यापित जीन कहलाते है ।

अविच्छिन जीन (Uninterrupted Gene) : वह जीन जिसमें अनुवादन व अनुलेखन की क्षमता होती है । वह अविच्छिन जीन कहलाता है ।

विच्छिन जीन (Interrupted/Split Gene) : जीन का वह भाग जो कि नॉनकोडिग क्षेत्र के रूप में जाना जाता है वह विच्छिन जीन कहलाता हैं ।

आभासी जीन (Pseudo/False gene) : जीन का वह भाग जो कि निष्क्रिय रूप में रहता है वह आभासी जीन कहलाता है ।

4.5 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Books)

1. कोशिका विज्ञान एवं आनुवांशिकी Cell Biology & Genetics- एस0 के0 शर्मा, डॉ0 पी० के० गोयल
2. कोशिका विज्ञान Cell Biology - सी० बी० पावर
3. कोशिका विज्ञान Cell biology - डी० वीरबाला रस्तौगी
4. अनुवांशिकी आधार Genetics Fundamental - बी० डी० सिंह

4.6 बोध प्रश्न

प्रश्न 1 अपने उत्तर के लिए उपर्युक्त छोड़े गये स्थान का ही उपयोग करे ।

1. जीन शब्द..... द्वारा दिया गया ।
2. जीन..... उपइकाईयों में विभेदित होता है ।

3. न्यूक्लियोसोम.....व..... बना होता है ।

4. म्यूटॉन..... की उप इकाई है ।

प्रश्न 2 बहुविकल्पी प्रश्न उत्तर का चयन करे ।

1. आनुवांशिकी का जनक किसे कहा जाता है?

(अ) मेण्डल (ब) अरसा (स) ल्यूवेनहॉक (द) हार्वे

2. न्यूक्लियोसोम में कौनसी प्रोटीन पायी जाती है?

(अ) H_1 (ब) H_4 (स) H_3 (द) उपर्युक्त सभी

3. जीन बना होता है?

(अ) DNA (बी) प्रोटीन (स) कार्बोहाइड्रेट (द) वसा

प्रश्न 3 सत्य व असत्य बताइये -

1. आभासी जीन के मध्य DNA अन्तराल खण्ड के रूप पाया जाता है । सत्य/असत्य

2. जीन तीन उप इकाईयों से मिलकर बना होता है । सत्य/असत्य

3. जॉहनसन द्वारा एक जीन एक एन्जाइम परिकल्पना दी गयी । सत्य/असत्य

प्रश्न 4 निम्न प्रश्नों का संक्षिप्त में उत्तर दीजिये-

1. जीन कॉनसेप्ट क्या है?

.....

2. ओपेरोन को समझाइए ।

.....

3. जीन की उप इकाइयों के नाम लिखिए ।

.....

4.6 बोध प्रश्नों के उत्तर

प्रश्न 1 1. जोनसन

2. तीन

3. DNA व हिस्टोन

4. उत्परिवर्तन

प्रश्न 2 1. अ

2. द

3. अ

प्रश्न 3 1. सत्य

2. सत्य

3. असत्य

4.7 अभ्यासार्थ प्रश्न

प्रश्न 1 जीन संगठन का संक्षिप्त में वर्णन कीजिए ।

प्रश्न 2 निम्नलिखित पर टिप्पणी लिखिए ।

1. आभासी जीन
2. विच्छिन व अविच्छिन जीन में अन्तर
3. न्यूक्लियोसोम की अवधारणा

प्रश्न 3 जीन कॉनसेप्ट को समझाइये ।

इकाई 5

आनुवांशिक छूट
(Genetic Code)

इकाई को रूपरेखा

5.1 उद्देश्य

5.2 प्रस्तावना

5.3 आनुवांशिक छूट

- 5.3.1 आनुवांशिक कूट के गुण
- 5.3.2 कोडोन व विपरीत कोडोन
- 5.3.3 प्रारम्भ कूट
- 5.3.4 समापन कूट
- 5.3.5 वोबल परिकल्पना
- 5.3.6 कोडोन नियतन

5.4 बोध प्रश्न

5.5 सारांश

5.6 शब्दावली

5.7 संदर्भ ग्रन्थ

5.8 बोध प्रश्नों के उत्तर

5.9 अभ्यासार्थ प्रश्न

5.0 उद्देश्य (Objective)

जीव विज्ञान की वह शाखा जिसमें जीन सम्बन्धी अध्ययन किया जाता है उसे आनुवांशिकी (Genetics) कहते हैं । प्रत्येक कोशिका की सभी क्रियाओं के लिये प्रोटीनों की जरूरत होती है जो कई एन्जाइमों की तरह कार्य करता है प्रत्येक कोशिका में ये एन्जाइम या प्रोटीन निश्चित जीनों द्वारा संश्लेषित किये जाते हैं । इन जीनों में उपस्थित न्यूक्लिओटाइड एक निश्चित क्रम में होने पर ही निश्चित प्रोटीन बनता है । इन निश्चित क्रमों को कूट या Code कहते हैं ।

इस अध्याय में निम्नलिखित बिन्दुओं पर चर्चा की गई है-

1. आनुवांशिकी कूट
2. आनुवांशिकी कूट के गुण
3. कोडोन व विपरीत कोडोन
4. प्रारंभन कूट
5. समापन कूट
6. वोबल परिकल्पना

7. कोडोन नियतन

5.1 प्रस्तावना (Introduction)

आनुवांशिक कूट को समझने के लिए पहले जीन और प्रोटीन के बीच के सम्बन्ध को समझना आवश्यक होता है ।

1. सभी क्रियाओं को एक विशेष एन्जाइम द्वारा उत्प्रेरित किया जाता है तथा सभी एन्जाइम प्रोटीन के बने होते हैं ।
2. सभी एन्जाइमों की क्रिया उसमें उपस्थित अमीनो अम्लों के क्रम पर निर्भर करता है ।
3. बीडल व टाटम (Beadle & Tatum, 1940) की एक जीन एक एन्जाइम अवधारणा (Hypothesis) में यह बताया गया है कि एक एन्जाइम या एक प्रोटीन का बनना एक जीन द्वारा निर्धारण किया जाता है ।
4. एक जीन DNA का एक टुकड़ा होता है जो ट्रासक्रिप्शन द्वारा m-RNA बनाता है तथा यह m-RNA ट्रांसलेशन द्वारा पॉलिपेप्टाइड श्रंखला बनाता है । यह पूरी क्रिया सेन्ट्रल डोग्मा (Central dogma) कहलाती है ।
5. इस पूरी प्रक्रिया में m-RNA एक मध्यस्थ (Intermediate) की तरह कार्य करता है जो DNAके, न्यूक्लिओटाइडो के क्रम की सूचना को अमीनो अम्लों के क्रम को देता है ।
6. प्रत्येक अमीनो अम्ल m-RNA के तीन क्षारकों (Bases) के क्रम पर निर्भर करता है ।
7. प्रत्येक t-RNA (ट्रांसफर RNA) में तीन क्षारकों का कम एंटी कोडोन (anticodon) होता है जो m-RNA के कूट (codon) को पढ़ता है ।

5.3 आनुवांशिक कूट (Genetic code)

क्षारकों के क्रम और अमीनो अम्लों के क्रम के मध्य के सम्बन्ध को आनुवांशिक कूट (Genetic Code) कहते हैं ।

5.3.1 आनुवांशिक कूट के गुण (Properties of Genetic Code)

आनुवांशिक कूट के निम्नलिखित गुण प्रयोगों द्वारा प्राप्त प्रमाणों के आधार पर सिद्ध हो चुके हैं ।

I. कूट त्रिक होता है (The code is triplet)

अभी तक 20 अमीनो अम्ल प्राकृतिक रूप से पाये जाते हैं । अत: प्रत्येक प्रोटीन अणु को बनाने के लिए 20 से अधिक कोडोन या कूट होने चाहिए ।

आनुवांशिक कूट में एक क्षारक नहीं हो सकता क्योंकि कुल 4 ही क्षारक हैं अत: उनसे केवल 4 अमीनो अम्ल ही बन सकते हैं । आनुवांशिक कूट में 2 क्षारक (Pairs of bases) भी नहीं हो सकते क्योंकि तब भी संभावना 4^2=16 जोड़े ही बनने की होती है ।

आनुवांशिक कूट में तीन क्षारकों का क्रम होने की संभावना होती है क्योंकि इसमें 4^3=64, त्रिक क्षारक होते हैं जो कि जरूरत से कहीं ज्यादा होते हैं । यह तीन क्षारकों का कूट पहली बार गेमनो (Gamnow) द्वारा 1954 में सुझाया गया । यह तीन क्षारकों का क्रम ही Codon या

कूट कहलाता है । क्योंकि 20 अमीनों अम्लों के लिए 64 कूट हैं अत: यह निश्चित है कि एक अमीनो अम्ल के लिए एक से अधिक कूट होते हैं । इस तरह के कूट अपह्रासित (code degenerate) कहलाते हैं ।

एक संभावना यह भी हो सकती है कि कूट 3 की जगह 4 क्षारकों के क्रम से बनी हो इस तरह 4^4=256 क्रमों की संभावना हो सकती है परन्तु इस तरह प्रत्येक अमीनो अम्ल के लिए कई सारे कूट हो सकते हैं और अपहासित कूट की संभावना बढ़ जाती है ।

	A	C	U	G
A	AA	CA	UA	GA
C	AC	CC	UC	GC
U	AU	CU	UU	GU
G	AG	CG	UG	GG

Duplet codon

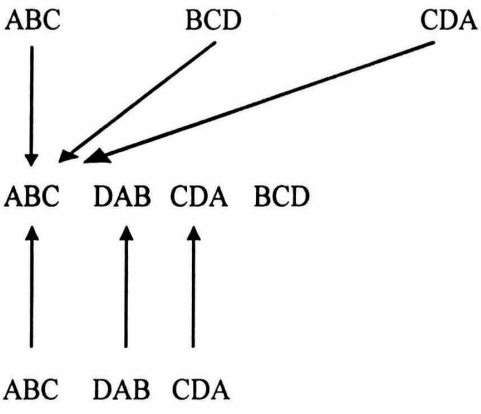
	U		C		A		G	
	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
U	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	T	UGC	Cys
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp
	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
C	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
A	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg
	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly
G	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	A	GGC	Gly
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Gl	GGG	Gly

II. कूट अनतिव्यायी होता है (The code is non-overlapping)

एक कूट reading frame (पढ़ने योग्य ढांचे) को स्थापित करता है जो आने वाले नये कूट के तीन न्यूक्लियोटाइडों के क्रम को शुरू करता है । इन कूटों को पढ़ने के कई तरीके हो सकते है । जिनमें से दो तरीके सबसे ज्यादा महत्वपूर्ण है तथा एक-दूसरे के विकल्प भी है ।

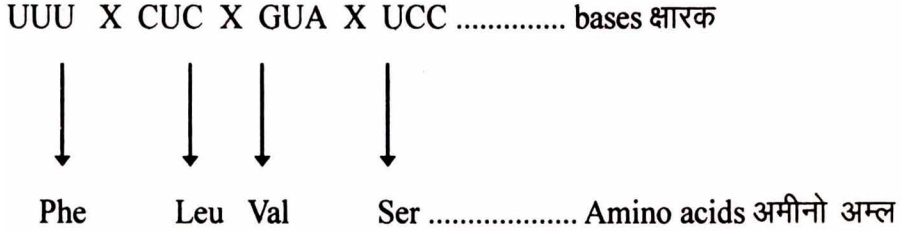
1. Overlapping Codes अतिव्यापी

2. Non Overlapping Code अनतिव्यापी

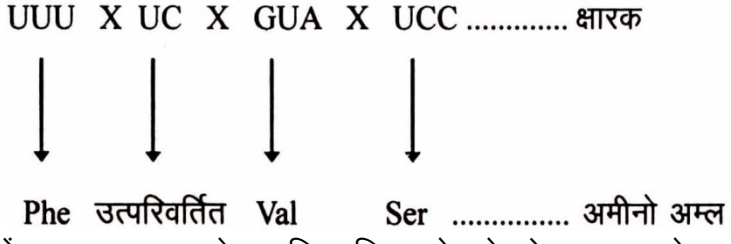


अतिव्यापी कूट के अन्दर प्रत्येक क्षारक किसी दूसरे कूट के प्रथम क्षारक का कार्य करता है । जबकि अनतिव्यापी कूट में प्रत्येक क्षारक केवल एक ही कूट में होता है । अतिव्यापी कूट के अन्तर्गत DNA का एक छोटा सा भाग ही अनतिव्यापी कूट से 3 गुणा ज्यादा प्रोटीन बना सकता है । लेकिन अतिव्यापी कूट में केवल एक उत्परिवर्तित क्षारक तीन अमीनों अमलों को बदल सकता है ।

कूट सतत होता है, इस बात को हम निम्नांकित उदाहरण से समझ सकते हैं:-



इन क्षारकों में X दो कूटों के मध्य विराम है यदि इन क्षारकों में किसी एक में (mutation) उत्परिवर्तन होता है तो उससे बनने वाले प्रोटीन का केवल एक अमीनो अम्ल ही परिवर्तित होगा।



यदि इन क्षारकों का क्रम सतत रहे या बिना विराम के रहे तो इस तरह केवल एक क्षारक में उत्परिवर्तन होने पर पूरा प्रोटीन बदल जायेगा ।

UUU CUC GUA UCC ..... क्षारक

Phe Leu Val Ser ..... अमीनो अम्ल

UUU UCG UAU CCA ..... क्षारक

Phe Ser Tyr Pro ..... अमीनो अम्ल

III. आनुवांशिक कूट ध्रुवीय होता है (Geneic code have polarity)

किसी भी जीन के लिये एक ही तरह का प्रोटीन बनाने के लिये यह जरूरी है कि उस जीन के कूट एक निर्धारित स्थान से शुरू होकर निर्धारित स्थान पर ही खत्म हो । इन स्थानों को क्रमश: प्रारम्भन कूट व समापन कूट कहते हैं । इन स्थानों के साथ ही इन कूटों को पढ़ने की दिशा भी निश्चित ही होनी चाहिए ।

उपलब्धि जानकारियों से यह स्पष्ट है कि mRMA का संदेश 5'→ 3' दिशा में पढ़ा जाता है । पॉलिपेप्टाइड श्रृंखला N → C दिशा में बनती है अर्थात् अमीनो (NH_2) समूह से कार्बोक्सिल (COOH) समूह की ओर ।

IV. छूट अपह्रासित होता है (The code is degenerate)

जैसा कि पूर्व में हमने पढ़ा है कि 64 संभावित कोडोन में से 61 कोडोन अमीनों अम्लों को कोड करते हैं । क्योंकि प्रोटीन संश्लेषण में मात्र 20 अमीनो अम्ल ही भाग लेते हैं अत: कोडोनस् की संख्या अमीनो अम्लों से कहीं ज्यादा है केवल ट्रेप्टोफेन (Tryptophan) व मिथियोनिन (methionine) को छोड़कर बाकी सभी अमीनो अम्लों के एक से अधिक कोडोन होते हैं ।

फीनाइलअलानिन (Phenylalanine), टायरोसिन (tyrosine), हिस्टोडिन (histidine), ग्लूटामाइन (gultamaine), एसपरजीन (asparagine), लाइसिन (lysine), एसपारटिक अम्ल (aspartic acid), ग्लूटामिक अम्ल (glutamic acid) तथा सिस्टाइन (cystein) के लिए दो कोडोन होते हैं । आइसोल्यूसिन (Isoleucine) के लिये तीन कोडोन तथा ल्यूसिन (leucine), थ्रोयोनिन (threonine) व सेरिन (serine) प्रत्येक के लिए 6 कोडोन होते हैं । वलीन (Valine), प्रोलीन (proline), थ्रोयोनिन (threonine), अलानिन (alanine) व लाइसिन (lycine) के लिए चार कोडोन होता हैं । कोडोनस् की यह परिवर्तनशीलता प्रोटीन में अमीनो अम्लों के असमान वितरण के कारण होती है ।

V. **आनुवांशिक कूट सार्वत्रिक होता है (Genetic code is universal)**

आनुवांशिक कूट बैक्टीरिया से लेकर मनुष्य तक सभी जीवों के लिए समान होता है । आनुवांशिक कूट की सार्वत्रिकता को समझाने के लिए मार्शल, कास्के तथा निरेनबर्ग ने 1967 में ई कोलाई (बैक्टीरिया), जीनोपस लेविस (उभयचर) तथा गुनिया पिग (स्तनधारी) के एमीनों एसिल t-RNA के कूटों का अध्ययन किया तथा पाया कि सभी में यह लगभग समान था ।

उद्विकास के दौरान ये कूट स्थिर ही रहे । इनमें होने वाले उत्परिवर्तनों (Mutation) से m-RNA पर कूटों की स्थिति परिवर्तित होने पर बदले हुए अमीनो अम्लों के क्रम का प्रोटीन बनता है । जिनमें ज्यादातर परिवर्तन घातक होते हैं । इसलिए जीवों में इस प्रकार के उत्परिवर्तन से बचने के लिए विशेष क्रियाएँ होती है जिससे लंबे समय तक एक ही प्रकार के कूट सभी जीवों में स्थिर ही रहे हैं ।

VI. कूट असंदिग्ध होता है (The code is non-ambiguous)

जिस कूट में किसी भी कोडोन विशेष के बारे में कोई संदेह नहीं होता वह असंदिग्ध कूट कहलाता है । अर्थात् एक विशेष कोडोन हमेशा एक ही अमीनो अम्ल को कोडित करेगा चाहे वह कोडोन किसी भी स्थान पर हो ।

5.3.2 कोडोन व विपरीत कोडोन (Codon and anticodon)

ट्रांसलेशन के समय m-RNA अपने विपरीत कूट (anticodon) जो t-RNA पर होते हैं से जुड़ता है । क्योंकि m-RNA एक ध्रुवीय दिशा 5'→3' में पढ़ा जाता है अत: codon भी 5'→3' दिशा में ही लिखे जाते हैं । अत: codon AUG को 5'AUG3' लिखा जायेगा । इसके विपरीत t-RNA का codon जिसको anticodon कहते हैं वह 5' CAU 3' लिखा जायेगा । इस स्थिति में codon व anticodon का प्रथम क्षारक 5' तथा तीसरा क्षारक 3' की तरफ होता है ।

codon m-RNA5'	A	U	G	3'	
anti codon t-RNA	3'	U	A	C	5'

anticodon की दिशा 3'→5' होती है ।

5.3.3 प्रारम्भन कूट (Intiation codon)

सभी यूकेरियोटो में प्रोटीन संश्लेषण का प्रारम्भिक अमीनो अम्ल methionice तथा प्रोकैरियोटों में N-formyl methionine होता है ।

मिथियोनिल या N-फार्मिल मिथियोनिल t-RNA केवल उन्हीं प्रारम्भन स्थानों पर जुड़ता है जहाँ पर AUG codon, उपस्थित होता है । इसलिए इस codon को प्रारम्भन कूट (Initiation codon) कहते हैं । कुछ बैक्टीरिया में AUG codon नहीं होने पर या उत्परिवर्तन द्वारा नष्ट हो जाने पर GUG जो कि Valine अमीनो अम्ल बनाता है श्रृंखला प्रारम्भ करता है परन्तु इसकी met-t RNA से कम जुड़ाव होता है । AUG तथा GUG श्रृंखला प्रारम्भ होने के बाद AUG methionine तथाGUG Valine अमीनो अम्लों के कूट का कार्य करते हैं ।

5.3.4 समापन कूट (termination code)

64 codon,में से 3 codon किसी भी t-RNA के लिए विशेष नहीं होते अर्थात् निरर्थक या किसी भी अमीनो अम्ल का कूट नहीं है इन्हें इसलिए non sense codons भी कहते हैं । ये कोडोन UAG (amber) एम्बर, UAA (ochre) ओक्रे तथा UGA (opal or umber) ओपॉल होते हैं । क्योंकि ये प्रोटीन संश्लेषण श्रृंखला को समापन की ओर ले जाते हैं इन्हें इसलिए समापन कूट (termination code) भी कहते हैं ।

सबसे पहले UAG समापन कूट खोजा गया जिसको इसके खोजकर्ता स्नातक छात्र Bernstein ने (जर्मन भाषा में) ऐम्बर का नाम दिया गया । जबकि दो अन्य समापन कूटों को नाम रंगों के आधार पर दिया गया है । समापन कूट किसी भी अमीनो अम्ल को code नहीं करते अत: श्रृंखला समापन व पॉलिपेप्टाइड श्रृंखला को मुक्त करने का कार्य करते हैं । समापन कूट किसी

भी t-RNA अणु द्वारा नहीं पहचाने जाते बल्कि कुछ प्रोटीनों जिन्हें release factor (मुक्ति कारक) कहते हैं, इनके द्वारा पहचाने जाते हैं । प्रोकैरियोटों के अन्दर तीन मुक्ति कारक RF-1, RF-2 तथा RF-3 होते हैं । इनमें RF-1 UAA तथा UAG को पहचानता है जबकि RF-2 UAA तथा UGA को पहचानता है । RF-3 का कार्य RF-। तथा RF-2 को उद्दीप्त करना है ।

यूकैरियोटौ में केवल एक मुक्ति कारक (RF) सभी तीनों समापन कूटों को पहचानता है ।

5.3.5 वोबल परिकल्पना (Wobble Hypothesis)

यह परिकल्पना 1966 में क्रिक (Crick) नामक वैज्ञानिक द्वारा दी गई । हम जानते हैं कि अमीनो अम्लों के लिए 61 कोडोन होते हैं अत: इन कोडोन के विपरीत कोडोन (anticodon) वाले 61 t RNA अणु होने चाहिए । परन्तु कोशिका के अन्दर t-RNA अणुओं की संख्या बहुत कम होती है । इससे यह पता चलता है कि t RNA अणु के विपरीत कोडोन m-RNA के एक से ज्यादा कोडॉनों को पढ़ते हैं । वोबल परिकल्पना के अनुसार कोडोन के प्रथम दो क्षारक ही t-RNA के anticodons के साथ m-RNA का युग्मन करते हैं । जबकि तीसरे स्थान पर उपस्थित क्षारक का युग्मन t-RNA पर उपस्थित विपरीत कोडोन के न्यूक्लियोटाइड के अनुसार परिवर्तित होता है । सीरिन के लिए t-RNA विपरीत कोडोन UCG m-RNA के दो कोडॉनों AGC तथा AGU को पहचानता है । जबकि UCG तथा AGU में G तथा U के मध्य हाइड्रोजन बंध बनता है जो कि वाटसन व क्रिक के नियमानुसार नहीं है जिसमें G C के साथ तथा A U के साथ बंध बनाता है । इस तरह तीसरे क्षारकों के मध्य बंधन को वोबल बंधन कहते हैं ।

m-RNA codon (serine)	5’ AGC 3’	5’ AGU 3’
t-RNA anticodon	3’ UCG 5’	3’ UCG 5’

किसी भी कूट की परिवर्तनशीलता (degenerancy) निश्चित होती है । ज्यादातर एक अमीनो अम्ल के अलग-अलग codon के पहले दो अक्षर समान होते हैं जैसे valine के चारों codon के पहले दो अक्षर GU तथा alanine के GC होते हैं ।

Leucine, serine तथा arginine इसका अपवाद है । यदि किसी अमीनो अम्ल के लिए केवल 2 codon हों तो यह आवश्यक है कि इन codon के तीसरे क्षारक या तो प्यूरीन होंगे या पिरीमिडीन ।

	प्यूरीन		पिरीमिडीन		प्यूरीन	
Codons	UUA	UUG	CUU	CUC	CUA	CUG
Anticodons	AAU	AAU	GAA	GAA	GAU	GAU
बंधन का प्रकार	वाटसन क्रिक	वोबल	वाटसन क्रिक	वोबल	वाटसन क्रिक	वोबल

एक अमीनो अम्ल के विभिन्न कोडॉनों के लिए यह आवश्यक होता है कि ट्रांसलेशन में कम से कम तरह के t-RNA अणुओं की जरूरत पड़े । जैसे ल्यूसिन के लिए 6 तरह के codon UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, तथा CUG होते हैं । इनमें पहले दो codon के पहले दो अक्षर UU तथा शेष 4 कोडॉनों के पहले अक्षर CU हैं अत: कम से कम दो तरह के t-RNA अणुओं की आवश्यकता होगी जो वोबल बंधन द्वारा m-RNA के कोडॉनों से जुड़ सके । क्योंकि 4 कोडॉनो के प्रथम दो अक्षर CU हैं । परन्तु, दो के अन्दर अंतिम क्षारक प्यूरीन तथा दो के अंदर अंतिम क्षारक पिरीमिडीन हैं । अत: CU कोडॉनो को भी पढ़ने के लिए कम से कम दो तरह के विपरीत कोडॉनो चाहिए । अत: leucine के लिए कम से कम तीन t-RNA की जरूरत होती है ।

कुछ t-RNA में विपरीत कोडॉन में Inosine(I) जो कि adenosine के विअमोनीकरण से बनता है पाया जाता है । इनोसिन G से मिलता जुलता है अत: यह माना जाता है कि यह C के साथ बंध बनाये । लेकिन यह पाया गया है कि Inosine C,A व I के साथ बंध बनाता है । अत: वह t-RNA जिसके विपरीत कोडीन में वोबल बंधन वाले स्थान पर I होता है वह तीनों कोडीनों जिनका तीसरा क्षारक C, A, U हो, उस के साथ बंध बनाता है । Isoleucine ही ऐसा अकेला अमीनो अम्ल है जिसके लिए तीन कोडोन AUU,AUC तथा AUA होते हैं । एक UAI विपरीत कोडोन वाला t-RNA अणु तीनो कोडोनों के साथ बंध बनाने में सक्षम होता है ।

Codons for isoleucine	AUU	AUC	AUA
	: : :	: : :	: : :
Anticodon	UAI	UAI	UAI
	(A)	(B)	(C)

इनोसिन का वोबल बंधन (A) Uracil (B) Cytocine (C) Adenosine

वोबल बंधन केवल निम्नलिखित परिस्थितियों में ही होता है ।

1. यदि वोबल स्थिति पर U हो तो वह m-RNA के A or G वाले कोडोनों पर जुड़ सकता है ।
2. G विपरीत कोडॉन में तीसरे स्थान पर होने पर U व C से बंध बना सकता है ।
3. इनोसिन A, U व C के साथ बंध बना सकता है ।

5.3.6 कोडोन नियतन (Code Assignments)

पुरातन काल में यह मान लिया गया था कि आनुवांशिक कूट त्रिक ही होना चाहिए लेकिन यह नहीं समझाया जा सका था कि कौनसा कूट त्रिक किस अमीनो अम्ल को कोडित करता है । इस समस्या को हल करने के लिए वैज्ञानिकों ने पात्रे (in vitro) प्रणाली द्वारा पॉलिपेप्टाइड का निर्माण किया ।

I. अज्ञात अनुक्रमों वाले कोडोनों का नियतन (Assignment of Codones with unknown sequences)

(i) समबहुलक पॉलि U - मारशल निरेनबर्ग और जान मेथाई ने सबसे पहले यूरेसिल का प्रयोग करके m-RNA का संश्लेषण किया । उन्होंने ऐसा इसलिए किया जिसमें m-RNA में केवल UUU संरचना वाले त्रिक प्राप्त हों । इस m-RNA को ई.कोलाई के कोशिका सत (extract) जिसमें प्रोटीन संश्लेषण के सभी अवयव मौजूद थे मिलाया गया जिससे कोशिका मुक्त प्रोटीन संश्लेषण हो सके । इस प्रकार प्राप्त पॉलिपेप्टाइड में केवल फिनाइल एलानीन नामन अमीनो अम्ल ही उपस्थित थे । इससे यह निष्कर्ष निकलता है कि फिनाइल एलानीन को UUU त्रिक ही कोडित करता है । बाद में पॉलि- A से पालि लाइसिन और पॉलि-C से पॉलि प्रोलीन प्राप्त हुए जिससे यह सिद्ध हुआ कि AAA त्रिक लाइसिन व CCC त्रिक प्रोलीन अमीनो अम्ल को कोडित करता है । जबकि पॉलि-G से यह प्रयोग सफल नहीं हो सके क्योंकि पॉलि-G द्वितीयक संरचना बना लेता है जिससे वह राइबोसोम से जुड़ नहीं सकता ।

(ii) सह बहुलक निरेनबर्ग व उसके साथियों ने समबहुलक का सफलतापूर्वक प्रयोग करने के बाद सहबहुलक m-RNA का प्रयोग किया जिसमें कृत्रिक संश्लेषित दो या दो से अधिक क्षारक लिये । यदि इन क्षारकों की ज्ञात मात्राओं का उपयोग किया गया हो तो बनने वाले कोडोनों को समानुपात से परिकलित किया जा सकता है । उदाहरणार्थ यदि ये क्षारक A व C हैं तो इनसे बनने वाले पॉलि AC की संरचना में AAA, AAC, ACA, ACC, CCA, CAC, CAA, CCC आठ संभावित कोडोन होंगे ।

परन्तु इस तकनीक द्वारा अलग-अलग अमीनो अम्लों के कोडोनों को नियत करना संभव नहीं था।

II. ज्ञात अनुक्रमों वाले कोडोनों का नियतन (Assignment of Codons with known sequences)

अज्ञात अनुक्रमों वाले कोडोनों द्वारा ज्ञात क्षारक संयोजन के अनुक्रमों को ज्ञात करने के लिए निम्नलिखित विधियाँ काम में ली गई-

(i) निरेन्बर्ग और लेडर की बंधन तकनीक (Binding technique of Niremberg and Leder)

निरेन्बर्ग व लेडर ने 1964 में ज्ञात अनुक्रम वाले एक विशेष संश्लेषित त्रिक का प्रयोग एक विशेष अमीनोएसिल t-RNA तथा राइबोसोम के साथ किया यदि वह त्रिक उस t-RNA का विपरीत होगा तो एक सम्मिश्र बनायेगा । यदि यह सम्मिश्र सफलतापूर्वक बन जाता है तो संश्लेषित त्रिक उस अमीनो अम्ल के लिए विशेष त्रिक माना गया ।

प्रयोगों में यह पाया गया कि अमीनो एसिल t-RNA नाइट्रोसेलुलोस झिल्ली को पार नहीं कर सकता । इस सिद्धान्त को ध्यान में रखते हुए 20 अमीनो अम्लों को रेडियोएक्टिव बना दिया गया तथा प्रत्येक को अलग-अलग अमीनोएसिल t-RNA व राइबोसोम के साथ मिला दिया गया । इस प्रकार जो सम्मिश्र बना वह नाइट्रोसेलुलोस कला पर ही पाया गया जिस पर उपस्थित अमीनो अम्ल की पहचान कर विशेष त्रिक कोडोन की पहचान की गई ।

लेकिन इन प्रयोगों में अमीनो एसिल t-RNA का बंधन समान रूप से दक्ष नहीं पाया गया । अत: इस विधि द्वारा लगभग 45 कोडोनों में ही क्षारकों के अनुक्रम ज्ञात किये जा सके ।

(ii) खुराना द्वारा पुनरावृत्तीय अनुक्रम वाले सहबहुलकों का प्रयोग (copolymer of repetitive sequences by Khurana)

हरगोविन्द खुराना तथा उनके साथियों ने संश्लेषित DNA का प्रयोग करके ज्ञात पुनरावृत अनुक्रमों वाले RNA का संश्लेषण पहले किया हुआ था । पुनरावृत्त अनुक्रम का अर्थ किन्हीं भी दो या दो से अधिक क्षारकों का RNA की सम्पूर्ण लम्बाई में पुनरावृत्ति होना है जैसे AU क्षारकों के लिए यह AUAUAUAU... इसी प्रकार ACU क्षारकों के लिए ACU ACU ACU ACU ACU ACU इस प्रकार बने सहबहुलक से जो प्रोटीन संश्लेषित होंगे, उनके अमीनो अम्लों के अनुक्रम का सैद्धान्तिक रूप से पूर्वानुमान किया जा सकता है । जैसे CU क्षारकों के पुनरावृत्त अनुक्रम होने पर CUC तथा UCU कोडोन ही संभावित है अत: इस m-RNA से बनने वाले पालिपेप्टाइड में दो तरह के अमीनो अम्ल एकान्तर क्रम में पाये जायेंगे ।

C U C U C U C U C U C U.....m-RNA

ल्यूसिन सीरिन ल्यूसिन सीरीन..... अमीनो अम्ल

इसी प्रकार ACG पुनरावृत्त अनुक्रम होने पर तीन समपालिपेप्टाइडों की संभावना होगी ।

1.	ACG	ACG	ACG	ACG	ACG	ACG	.....m-RNA
	थ्रियोनिन	थ्रियोनिन	थ्रियोनिन	थ्रियोनिन	थ्रियोनिन	थ्रियोनिन	.....अमीनो अम्ल
2.	ACG	ACG	ACG	ACG	ACG	ACG	..... m-RNA
	आर्जिनिन	आर्जिनिन	आर्जिनिन	आर्जिनिन	आर्जिनिन	आर्जिनिन	.....अमीनो अम्ल
3.	ACG	ACG	ACG	ACG	ACG	ACG	.....m-RNA
	ग्लूटामिक अम्ल	ग्लूटामिक अम्ल	ग्लूटामिक अम्ल	ग्लूटामिक अम्ल	ग्लूटामिक अम्ल	ग्लूटामिक अम्ल	.....अमीनो अम्ल

कोडॉन नियतन (अर्थात्यह ज्ञात करना कि एक विशिष्ट क्षारक संयोजन वाले तीनों कोडॉनों में से कौन सा कोडॉन किस अमीनो अम्ल को कोडित करता है) निरेनबर्ग व लेडर के पूर्ववर्ती ज्ञान पर ही निर्भर था ।

5.4 बोध प्रश्न

नोट : 1. प्रत्येक प्रश्न में छोड़ी गई जगह का इस्तेमाल अपने उत्तर लिखने के लिए करें ।

2. अपने उत्तर इकाई के अन्त में दिये गये उत्तरों से मिलाये ।

प्रश्न 1 निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर दो -

रिक्त स्थान भरो -

1. एक जीन एक एन्जाइम परिकल्पना..... ने प्रतिपादित की ।

2. आनुवांशिक कूट .....क्षारकों से बना होता है ।

3. श्रृंखला प्रारम्भन कूट ..... है ।

4. समापन कूट UAG को ..... भी कहा जाता है ।

प्रश्न 2 बहुविकल्पी प्रश्न -

निम्न में से सही उत्तर कोष्ठक में लिखें-

1. तीन क्षारकों का कूट सर्वप्रथम प्रतिपादित किया था-

(अ) गेमोव (ब) मार्शल (स) खुराना (द) कार्नबर्ग

2. निम्नलिखित में से कौन समापन कूट नहीं है -

(अ) UAA (ब) UAG (स) UAU (द) UGA

3. UAI विपरीत कूट m-RNA के किस कूट से नहीं जुड़ेगा -

(अ) AUU (ब) AUC (स) AUA (द) AUG

4. प्रोकेरियोटो में श्रृंखला प्रारम्भन कूट किस अमीनो अम्ल को कूट करता है -

(अ) ग्लाइसीन (ब) मिथिओनि (स) फार्मिल मिथियोनिन (द) सीरिन

5. निम्न में से कौनसा वाक्य असत्य है -

(अ)आनुवांशिक कूट सार्वत्रिक होता है। (ब)आनुवांशिक कूट अध्रुवीय होता है।

(स)आनुवांशिक कूट सतत होता है। (द)आनुवांशिक कूट तीन क्षारकों से बना होता हे।

प्रश्न 3 निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर संक्षिप्त में दो -

1.विपरीत कूट (anticodon) किसे कहते हैं?

……

……

……

2. मुक्ति कारक (Release factor) क्या होते हैं?

……

……

……

3. कूट की परिवर्तनशीलता या अस्थिरता क्या है?

……

……

……

5.5 सारांश (Summary)

जीन के क्षारकों के क्रम तथा संश्लेषित होने वाले अमीनो अम्लों के क्रम के मध्य के सम्बन्ध को आनुवांशिक कूट कहते हैं । आनुवांशिक कूट तीन अक्षरों या तीन क्षारकों का बना, सतत, non overlapping ,ध्रुवीय, परिवर्तनशील (degenerative) होता है । प्रोटीन संश्लेषण m-RNA के कूट codon तथा t-RNA के विपरीत कूट anticodon मिलकर करते हैं । AUG कूट अमीनो अम्ल संश्लेषण को शुरू करने के लिए काम में आता है उसे श्रृंखला प्रारम्भन कूट कहते हैं । कुछ कूट जो। t-RNA के विपरीत कूटों द्वारा नहीं पहचाने जाते बल्कि कुछ मुक्तिकारकों (Release factor) द्वारा पहचाने जाते हैं, समापन कूट कहलाते हैं । वोबल परिकल्पना के अनुसार किसी भी कूट के प्रथम दो क्षारक ही विपरीत कूट के साथ प्रबल बंध बनाते हैं जबकि तीसरे क्षारक का बंधन m-RNA के कूट के अनुसार होता है ।

5.6 शब्दावली (Glossary)

1. आनुवांशिक कूट

डी एन ए के क्षारकों के क्रम तथा संश्लेषित होने वाले अमीनो अम्लों के क्रम के मध्य सम्बन्ध को आनुवांशिक कूट कहते हैं ।

2. कोडॉन (codon)

तीन क्षारकों का क्रम जो किसी अमीनो अम्ल को बनाता है ।

3. विपरीत कोडॉन (anti codon)

t-RNA पर पाया जाने वाला codon जो म-RNA के कोडोन के विपरीत होता है ।

4. सेन्ट्रल डोग्मा (central dogma)

किसी जीन द्वारा m-RNA का बनना तथा m-RNA से प्रोटीन संश्लेषण होने की प्रक्रिया को सेन्ट्रल डोग्मा कहते हैं ।

5. श्रृंखला प्रारम्भन कूट (Initiation codon)

m-RNA प्रोटीन संश्लेषण क्रिया को शुरू करने वाला AUG कूट श्रृंखला प्रारम्भन कूट कहलाता है।

6. समापन कूट (Termination codon)

प्रोटीन संश्लेषण को रोकने वाले कूट UAA, UGA, UAG, जो किसी भी t-RNA द्वारा नहीं पहचाने जाते बल्कि मुक्ति कारक (release factors) द्वारा पहचाने जाते हैं ।

7. मुक्ति कारक (Release factor)

वे कारक जो नई संश्लेषित हुई पॉलिपेप्टाइड श्रृंखला को m-RNA से अलग करने में मदद करते हैं।

8. वोबल परिकल्पना

इस परिकल्पना के अनुसार m-RNA के प्रथम दो क्षारक t-RNA विपरीत कूट के साथ वाटसन क्रिक बंधन बनाते हैं । जबकि t-RNA के कूट का अंतिम क्षारक m-RNA कूट के अंतिम क्षारक के अनुसार वोबल बंध बनाता है ।

9. ट्रांसक्रिप्शन

डी एन ए द्वारा m-RNA बनने की क्रिया को ट्रांसक्रिप्शन कहते हैं ।

10. ट्रांसलेशन

m-RNA से प्रोटीन संश्लेषण होने की क्रिया ट्रांसलेशन कहलाती है ।

5.7 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Books)

1. Principle of Biochemistry - Lehninger
2. आनुवांशिकी - पी.के. गुप्ता
3. कोशिका विज्ञान - सी.बी. पवार
4. The Elements of Biochemistry - J.L. Jain
5. Molecular Biology - Devid Frifilder

5.8 बोध प्रश्नों के उत्तर

प्रश्न 1 1. बीडल व टाटम

2. 3 क्षारकों
3. AUG
4. अम्बर Amber

प्रश्न 2 1. अ

2. स
3. द
4. स

प्रश्न 3 1. T-RNA पर पाया जाने वाला कूट जो m-RNA कूट के विपरीत होता है ।

2. वे कारक जो नई संश्लेषित हुई पॉलिपेप्टाइड श्रृंखला को m-RNA से अलग करने में सहायता करते हैं ।
3. एक अमीनो अम्ल के लिए एक से अधिक कूट होते हैं यह कूट की अस्थिरता (degenerate code) कहलाता है ।

5.8 अभ्यासार्थ प्रश्न (Exercise Question)

प्रश्न 1. आनुवांशिक कूट किसे कहते हैं ? आनुवांशिक कूट किसी भी जीव के लिए क्यों आवश्यक है?

प्रश्न 2. श्रृंखला प्रारम्भन कूट को सउदाहरण समझाइये ।

प्रश्न 3. समापन कूट व मुक्ति कारकों के कार्यो पर उदाहरण सहित प्रकाश डालिये ।

प्रश्न 4. वोबल परिकल्पना क्या है? आनुवांशिक कूट निर्धारण में इसकी क्या उपयोगिता है?

प्रश्न 5. आनुवांशिक कूट के लक्षणों का विस्तृत वर्णन कीजिए ।

प्रश्न 6. आनुवांशिक कूट तीन क्षारकों का तथा सार्वत्रिक होता है । इस कथन को कैसे सत्यापित करोगे?

प्रश्न 7. कूट नियतन से आप क्या समझते हैं? ज्ञात अनुक्रमों वाले कोडों का नियतन सउदाहरण समझाइये ।

इकाई 6

जीन अभिव्यक्ति एवं प्रोटीन संश्लेषण की क्रियाविधि प्रौकेरियोट्स व यूकैरियोट्स में

इकाई की रूपरेखा

6.1 उद्देश्य

6.2 प्रस्तावना

- 6.2.1 प्रौकेरियोट्स में ट्रांसक्रिप्शन
- 6.2.2 प्रौकेरियोट्स में आर.एन.ए. संश्लेषण का प्रारंभन
- 6.2.3 प्रौकेरियोट्स में टर्मिनेशन क्रिया
- 6.2.4 यूकेरियोट्स में ट्रांसक्रिप्शन
- 6.2.5 यूकेरियोट्स में आर.एन.ए. संश्लेषण का प्रारंभन
- 6.2.6 यूकेरियोट्स में टर्मिनेशन क्रिया

6.3 सारांश

6.4 शब्दावली

6.5 सन्दर्भ ग्रन्थ

6.6 बोध प्रश्न

6.7 बोध प्रश्नों के उत्तर

6.8 अभ्यासार्थ प्रश्न

6.1 उद्देश्य

किसी भी कोशिका के लिए वृद्धि व पृथक्करण एक आवश्यक क्रिया है । प्रत्येक कोशिका में प्रोटीन संश्लेषण एक महत्वपूर्ण विधि है । कोशिकाओं में प्रोटीन संश्लेषण डी.एन.ए. (DNA) के खण्डों द्वारा होता है । जिन्हें "जीन" (Gene) कहते हैं । इन जीन्स (genes) में कोई उत्परिवर्तन होने पर कोशिका की उपापचयी क्रियाएँ प्रभावित हो जाती हैं । इस अध्याय में हम कोशिका द्वारा जीन (gene) से एम.आर.एन.ए. (mRNA) व एम.आर.एन.ए. (mRNA) से प्रोटीन संश्लेषण तथा साथ ही जीन अभिव्यक्ति का अध्ययन निम्नांकित बिन्दुओं के अन्तर्गत करेंगे-

6.2.1 प्राकेरियोट्स में ट्रांसक्रिप्शन

6.2.2 प्राकेरियोट्स में आर.एन.ए. (RNA) संश्लेषण का प्रारम्भन

6.2.3 प्राकेरियोट्स में टर्मिनेशन क्रिया

6.2.4 यूकेरियोट्स में ट्रांसक्रिप्शन

6.2.5 यूकेरियोट्स में आर.एन.ए. (RNA) संश्लेषण का प्रारम्भन

6.2.6 यूकेरियोट्स में टर्मिनेशन क्रिया

इतिहास

सन् 1941 में सर्वप्रथम केस्पेरसन व ब्रेकेट ने न्यूक्लिक अम्ल को प्रोटीन संश्लेषण से संबंधित कर के बताया । क्रिक ने 1958 में "सेन्ट्रल डोग्मा" को दर्शाया, इसमें पोलीपेप्टाइड में अमीनो अम्लों के क्रम को बताया गया था । ब्रेनर, जैकोब व मेसेल्सन ने 1961 में प्रोटीन संश्लेषण में mRNA के कार्य को बताया ।

सन् 1959 में ओकोआ व कॉर्नबर्ग ने आर.एन.ए.(RNA) व डी.एन.ए. (DNA) के संश्लेषण को सफलतापूर्वक बताया व इस कार्य हेतु इन्हें नोबल पुरस्कार दिया गया था ।

हॉल व स्पीगेल्मन ने सन् 1961 में बताया कि एक डी.एन.ए. (DNA) टेम्पलेट स्ट्रेण्ड पर एम.आर.एन.ए.(mRNA) अणु बनता है ।

6.2 प्रस्तावना

कोशिका में सर्वाधिक मात्रा में पाया जाने वाला पदार्थ प्रोटीन है । प्रोटीन में (C,H,O_2,N) कार्बन, हाइड्रोजन, आक्सीजन व नाइट्रोजन पाये जाते हैं । प्रोटीन शब्द "प्रोटिओज" नामक ग्रीक शब्द से उत्पन्न हुआ है । प्रोटीन शब्द मुल्डर द्वारा 1839 में दिया गया था । स्तनियों की पेशियों में 20% व रक्त प्लाज्मा में 70% प्रोटीन होता है ।

प्रोटीन प्राय: वृहद अणु होते हैं । इनके अणु कभी-कभी इतने विशाल होते हैं कि ये विलयन में प्रत्यक्ष कोलाइडी कणों के रूप में कार्य करते हैं । इनका अणुभार 6000 (इन्सुलिन) से कई लाख तक होता है ।

प्रोटीन्स का वर्गीकरण

1. **सरल प्रोटीन्स**

   ये प्रोटीन जल अपघटन के उपरान्त अमीनो अम्ल उत्पन्न करते हैं । उदाहरण- हिस्टोन्स एब्यूमिन्स ।

2. **संयुग्मी प्रोटीन्स**

   अमीनो अम्लों के अतिरिक्त कुछ अन्य घटक भी पाए जाते हैं । इन्हें व्यतिरिक्त वर्ग (Prosthetic Group) कहते हैं । उदाहरण - ग्लाइकोप्रोटीन, न्यूक्लियोप्रोटीन ।

3. **व्युत्पन्न प्रोटीन्स**

   ये प्रोटीन सरल प्रोटीनों के जल अपघटन के उत्पाद होते हैं । उदाहरण - पेप्टोन्स, फाइब्रिन ।

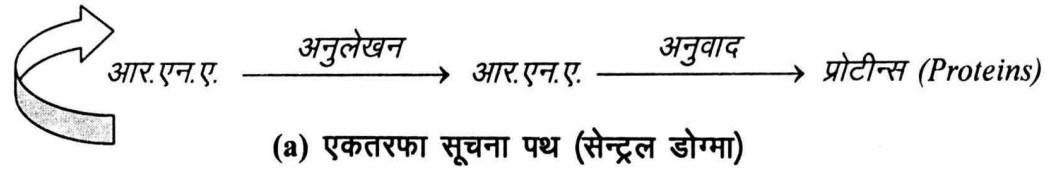
जीन अभिव्यक्ति व प्रोटीन संश्लेषण में सम्बन्ध

किसी भी जीव में साधारणतः जीन अभिव्यक्ति प्रोटीन्स के द्वारा होती है जो कि जीन्स में संचित सूचनाओं द्वारा संश्लेषित होते हैं । कई प्रकार के जीन्स, प्रोटीन संश्लेषण द्वारा अभिव्यक्त नहीं हो पाते हैं परन्तु प्रोटीन संश्लेषण के लिए उपकरण समान कार्य करते है । आर.एन.ए. (RNA) के स्थानान्तरित टी.आर.एन.ए. (tRNA) व राइबोसोमल आर.एन.ए.

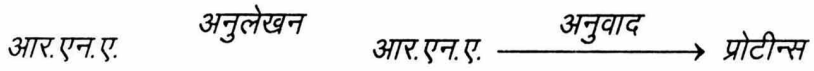
(rRNA) प्रकार के अलग-अलग जीन्स होते हैं । ये जीन्स प्रोटीन में अमीनो अम्ल के क्रम हेतु कोई सूचना नहीं देते हैं परन्तु प्रोटीन संश्लेषण में सक्रिय रूप से भाग लेते हैं ।

प्रोटीन का जैव संश्लेषण अधिकांशत: डी.एन.ए. (DNA) द्वारा नियंत्रित किया जाता है, जिनमें डी.एन.ए. अनुपस्थित होता है उनमें यह कार्य आनुवांशिक आर.एन.ए. (RNA) द्वारा नियंत्रित किया जाता है । पोलिपेप्टाइड के निर्माण के लिए आवश्यक सूचनाएँ पोलिन्यूक्लियोटाइड श्रृंखला में संचित रहती है । पोलिन्यूक्लियोटाइड श्रृंखला के खण्ड, पोलिपेप्टाइड में उपस्थित अमीनों एसिड्स के क्रम से निर्धारित होते हैं ।

यह संबंध सेन्ट्रल डोग्मा कहलाता है । (चित्र 1.1a) यह संबंध न्यूक्लिक अम्लों द्वारा प्रोटीन संश्लेषण के नियंत्रण को दर्शाता है । डी. एन. ए. द्वारा भी कई विशिष्ट प्रोटीन्स के संश्लेषण को नियंत्रित किया जाता है । डी. एन. ए. द्वारा सूचनाएँ आर. एन. ए. (rRNA) में स्थानान्तरित की जाती हैं और आर. एन. ए. (RNA) द्वारा प्रोटीन में भेजी जाती हैं । आर. एन. ए. द्वारा डी.एन.ए. संश्लेषण के नियंत्रण के प्रमाण भी पाए गए हैं । प्रारम्भ में आर.एन.ए. आनुवांशिक आर. एन. ए. (RNA) के रूप में पाया जाता है परन्तु डी. एन. ए. (DNA) के नियंत्रण द्वारा अनअनुवांशिक आर. एन. ए. (RNA) का संश्लेषण होता है । (चित्र 12b)



(a) एकतरफा सूचना पथ (सेन्ट्रल डोग्मा)



(b) अनुलेखन सूचना का विपरीत क्रम

चित्र 1.1 आनुवांशिक सूचनाओं का विपरीत पथ

अन-आनुवांशिक आर.एन.ए. (RNA) तीन प्रकार के होते हैं-

1. एम.आर.एन.ए. (mRNA)
2. टी.आर.एन.ए. (tRNA)
3. आर.आर.एन.ए. (rRNA)

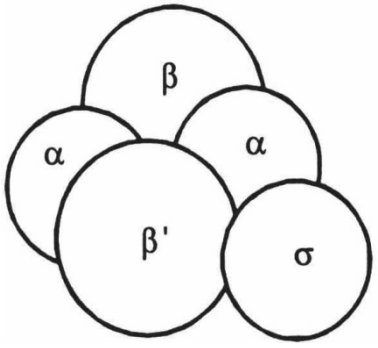
ये तीनों प्रकार के आर.एन.ए. (RNA) सक्रिय रूप से प्रोटीन संश्लेषण में शामिल होते हैं । प्रोटीन संश्लेषण मुख्य रूप से दो पदों में होता है ।

1. **अनुलेखन (Transcription) :** इसमें डी.एन.ए. (DNA) से एम.आर.एन.ए. (mRNA) में आनुवांशिक सूचनाओं का स्थानान्तरण होता है ।
2. **अनुवादन (Translation) :** न्यूक्लिक अम्लों में उपस्थित भाषा का अनुवाद किया जाता है ।

6.2.1 प्रौकेरियोट्स में अनुलेखन (Transcription in Prokaryotes)

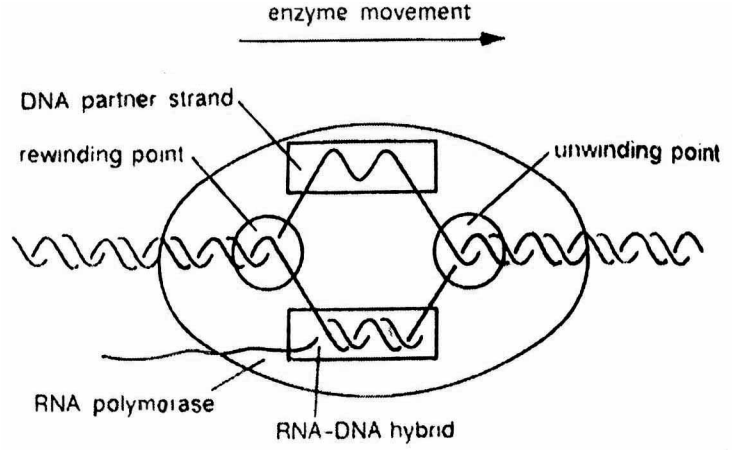
बैक्टीरियल सिस्टम जैसे ई-कोलाई में एक आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज ही सभी आर.एन.ए. संश्लेषण के लिए उत्तरदायी होता है । आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज 5 पोलिपेप्टाइड श्रृंखलाओं में होता है । चित्र 1.2

1.	दो श्रृंखलाएँ	(एल्फा) α	-	पोलिपेप्टाइड	-	2
2.	एक श्रृंखला	(बीटा) β	-	पोलिपेप्टाइड	-	1
3.	एक श्रृंखला	(बीटाडेश) β'	-	पोलिपेप्टाइड	-	1
4.	एक श्रृंखला	(सिग्मा) σ	-	पोलिपेप्टाइड	-	1
	कुल				-	5



चित्र 1.2 : प्रोकेरियोट्स RNA पोलिमरेज

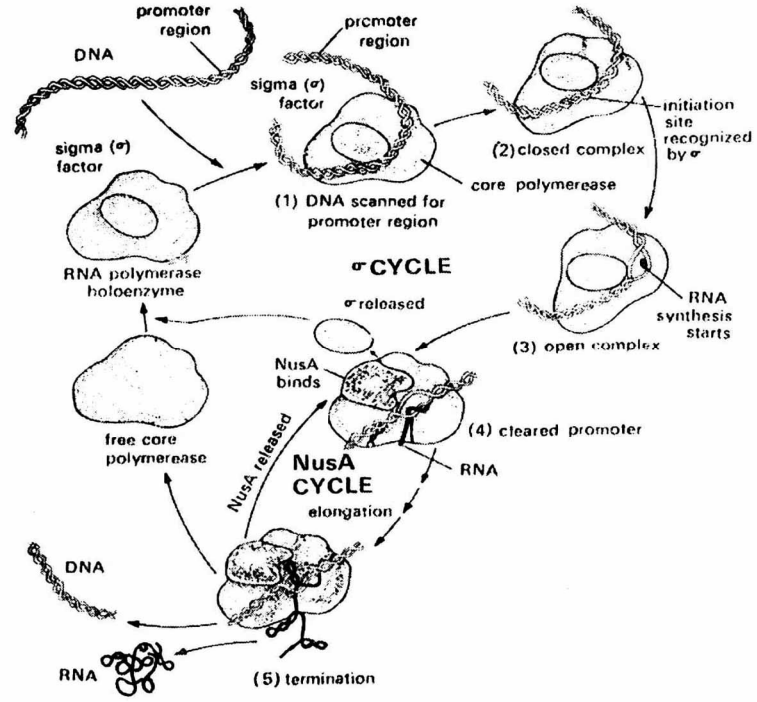
आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज अणु $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ द्वारा दर्शाये जाते हैं जहाँ सिग्मा (σ)अस्थाई है जिससे कोर एन्जाइम ($\alpha_2\beta\beta'$) इसे सरलता से अलग कर सकता है । चित्र 1.3 में कोर एन्जाइम्स की सक्रियता को दर्शाया गया है ।



चित्र 1.3 : बैक्टीरियल आर.एन.ए. (RNA) पोलिमरेज एन्जाइम के सक्रिय केन्द्र

β व β' उत्प्रेरक केन्द्र होते हैं जो आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज कि अनवाइन्डिंग में मदद करते हैं जिससे डी.एन.ए. (DNA) अणु का अनुलेखन हो सके । सिग्मा फैक्टर (σ) डी.एन.ए. (DNA) अणु पर उपस्थित संदेश को पहचानने में मदद करता है तथा आर.एन.ए. (RNA)

पोलीमरेज को प्रारम्भन स्थल को चुनने का निर्देश देता है । सिग्मा की अनुपस्थिति में आर.एन.ए. (RNA) संश्लेषण अनियंत्रित तरीके से होने लगता है । आर.एन.ए. (RNA) संश्लेषण प्रारम्भ होते ही सिग्मा पृथक हो जाता है । उसके बाद आर.एन.ए. (RNA), 8-9 क्षारकों युक्त हो जाता है व कोर एन्जाइम्स एम.आर.एन.ए. (m-RNA) को फैलाना शुरू करता है । पृथक हुआ सिग्मा फैक्टर (σ) पुन: कोर एन्जाइम्स से जुड़कर आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज हॉलोएन्जाइम बनाता है । चित्र 1 .4

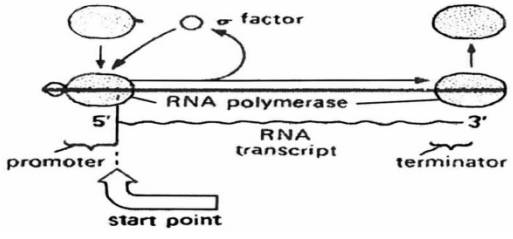


चित्र 1.4 : ट्रांसक्रिप्शन मे सिग्मा फैक्टर की भूमिका

प्रौकेरियोट्स जैसे ई-कोलाई में आर.एन.ए. (RNA) संश्लेषण एक ही प्रकार के RNA पोलीमरेज अणुओं द्वारा होता है । ये अणु एक सिग्मा अवयवों से अधिक हो सकते हैं जो अलग-अलग जीन अभिव्यक्ति के लिए अलग-अलग समय पर एक ही कोर एन्जाइम से जुड़ सकते हैं ।

प्रौकेरियोट्स में अनुलेखन का प्रारम्भन

डी.एन.ए. (DNA) टेम्पलेट पर आर.एन.ए. (RNA) संश्लेषण होता है यहाँ अनुलेखन यूनिट पाई जाती है । हर यूनिट पर प्रारम्भन बिन्दु व टर्मिनेशन सिग्नल पाए जाते हैं । चित्र 1.5 यह आवश्यक नहीं है कि टर्मिनेशन सिग्नल पर आर.एन.ए. (RNA) प्रस्तुत हों ।



चित्र 1.5 ट्रांसक्रिप्शन में आर.एन.ए. (RNA) पोलिमरेज की भूमिका

अपस्ट्रिम (प्रारम्भन से पूर्व) व डाउन स्ट्रिम (प्रारम्भन बिन्दु के पश्चात) पर हमेशा डी.एन.ए. (DNA) क्रम उपस्थित होता है जो अनुलेखन के लिए आवश्यक है । यह प्रोमोटर साइट कहलाती है । यह सिस डोमीनेन्ट होता है जब तक कि यह डीफ्यूसीबल तत्व (Diffusible element), संश्लेषण में शामिल नहीं होता है ।

90% मामलों में प्रारम्भन बिन्दु प्यूरिन होता है । अपस्ट्रिम से प्रारम्भन बिन्दु 6 बीपी. (6bp रीजन) क्षेत्र टी.ए.टी. ए.ए.टी. (TATAAT) होता है । यह प्रीब्नोव बाक्स (Pribnow box) कहलाता है । यह सभी प्रोमोटर्स पर पाया जाता है । इन 6 क्षारकों का संरक्षण 45% से 96% तक हो सकता है ।

(ई-कोलाई में लेक ओपेरोन के लिए TATGTG प्रोब्नोव बाक्स होता है)

$T_{80}A_{95}T_{45}A_{60}A_{50}T_{96}$

प्रोब्नोव बाक्स का केन्द्र 10bp अपस्ट्रिम पर पड़ता है अत: कभी-कभी इसे 10 क्रम के रूप में भी दर्शाया जाता है । यहाँ पर एक अन्य क्रम (T_{82} $T_{84}C_{78}A_{65}C_{54}A_{45}$) होता है जो-35 क्षारक अपस्ट्रिम होता है जो रिकॉगनिशन (reognition) क्षेत्र कहलाता है । बैक्टीरिया में विशेष प्रोमोटर तीन भागों (Component) के रूप में पाए जाते हैं ।

i) कोनसेन्सस क्रम - 10bp
ii) कोनसेन्सस क्रम - 35pb
iii) प्रारम्भन बिन्दु

6.2.2 प्रौकेरियोट्स में आर.एन.ए. (RNA) संश्लेषण के लिए प्रारंभन व दीर्घीकरण (elongation): अथवा लम्बन

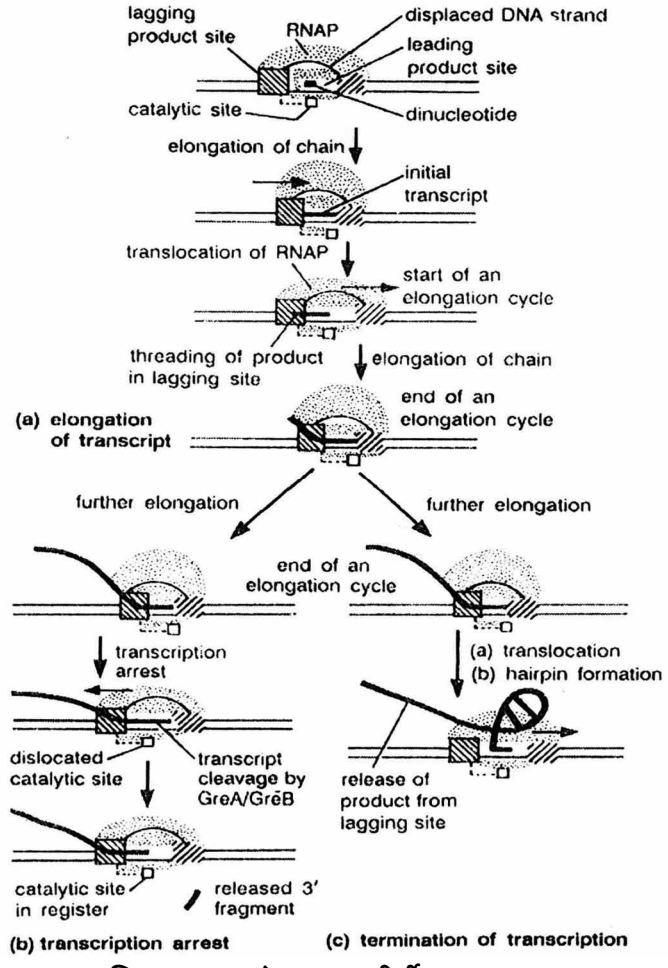
आर.एन.ए. (RNA) संश्लेषण के लिए आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज 4 चरणों में कार्य करता है ।

i) हॉलोएन्जाइम प्रोमोटर साइट पर बंध कर क्लोज्ड प्रोमोटर कोम्पलेक्स बनाता है जिसमें डी.एन.ए. (DNA) डबल हेलीकल के रूप में रहता है ।
ii) आइसोमरेज कोम्पलेक्स पास आकर डी.एन.ए. (DNA) स्ट्रेन्ड्स की अनवाइडिंग व पृथक्करण के लिए ओपन प्रोमोटर कोम्पलेक्स बनाते हैं ।
iii) अनवाइडिंग के बाद केवल दो स्ट्रेण्ड की प्रतिकृति होती है । ये न्यूक्लियोटाइड्स के मिश्रित होने के कारण होता है प्रारम्भ में ये अचल एन्जाइम की ओर बढ़ते हैं जिससे 9 क्षारकोयुक्त लम्बाई में आर.एन.ए. (RNA) श्रृंखला बनती है । हर पद में छोटी आर.एन.ए. (RNA) श्रृंखला मुक्त होती है जिसे अर्बोटिव प्रारम्भन कहते हैं । यह चक्र अर्बोटिव प्रारंभन (Abortive initiation) में छोटे (2-9 क्षारक) न्यूक्लियोटाइड्स बनते हैं ।
iv) प्रारंभन शुरू होने पर आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज का सिग्मा (σ) अवयव पृथक हो जाता है ।

v) यह (c) सिग्मा अवयव NusA प्रोटीन में चला जाता है व विशिष्ट स्थलों पर लम्बन का कार्य करता है । कोर एन्जाइम्स अब वृहद रूप से पुनर्वव्यवस्थित होकर स्थिर तृतीयक लम्बन संकुल (Ternary elongation complex) बनाते हैं । यह संकुल डी.एन.ए. (DNA) के साथ गतिमय होकर आर.एन.ए. (RNA) संश्लेषण करते हैं । आर.एन.ए. ट्रांसक्रिप्ट (RNA transcript) का लम्बन तब तक जारी रहता है जब तक अस्थाई टर्मिनेशन संकुल नहीं बन जाता है ।

अनुलेखन के दीर्घीकरण के लिए इन्चवोर्म मॉडल (Inchworm model for elongation of transcript)

यह मॉडल 1993 में चेम्बर्लिन (M. j.Chamberlin) ने दिया था । इसके अनुसार डी.एन.ए. (DNA) टेम्पलेट के साथ आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज का ट्रांसलोकेशन हो जाता है । आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज की एक स्थल पर डी.एन.ए. (RNA) व दो स्थलों आर.एन.ए. (RNA) द्वारा बंध जाता है । शेष स्थलों पर 10 नये न्यूक्लियोटाइड्स जुड़ जाते है । चित्र 1.6



चित्र 1.6 अनुलेखन का दीर्घीकरण/लम्बन

अनुलेखन का लम्बन निम्न स्थलों द्वारा होता है-

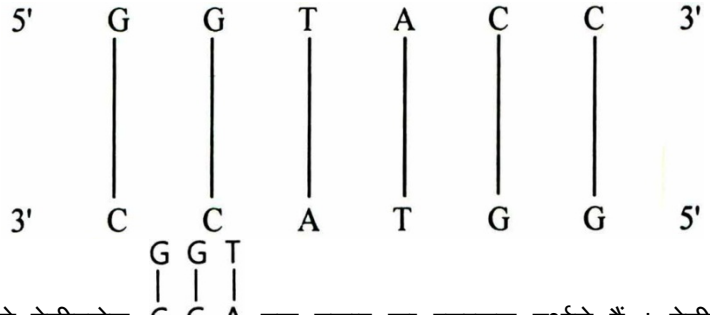
1. पॉज स्थल (Pause sites)
2. अरेस्ट साइट (Arrest sites)
3. टर्मिनेटर साइट (Terminator sites) (चित्र 1.5 अनुसार)

पोज स्थल पर डक्लियोटाइड जुड़ता है । अरेस्ट साइट लम्बन (elongation) रोकता है । (GreAवGreB की उपस्थिति में) टर्मिनेटर साइट आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज को मुक्त करता है । आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज 3' end से हट जाता है व ट्रांसकीप्ट क्लीवेज GrB द्वारा होता है व नया 3'end बनता है ।

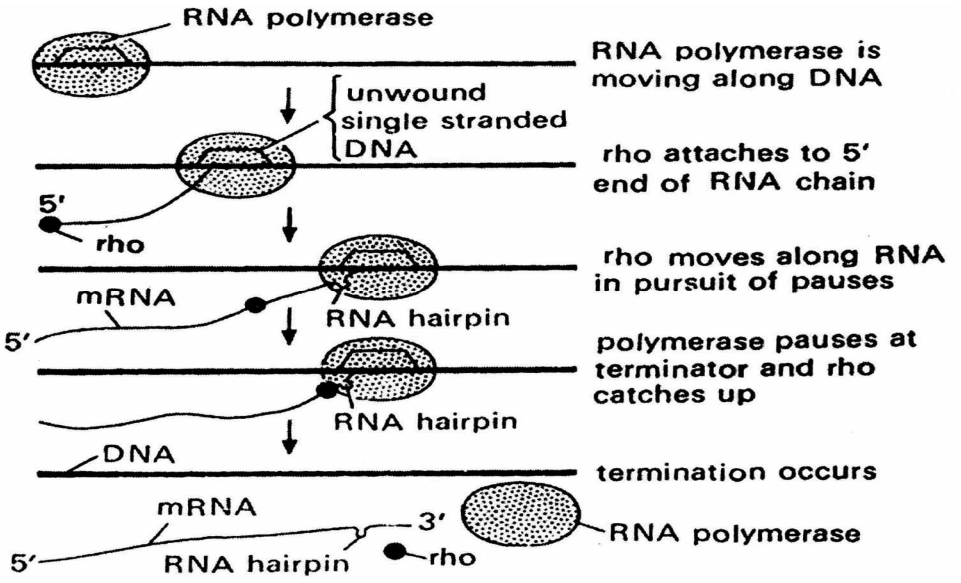
6.2.3 प्रोकेरियोट्स में एम.आर.एन.ए. (mRNA) संश्लेषण में टर्मिनेशन व एण्टीटर्मिनेशन

प्रोकेरियोट्स में एम.आर.एन.ए. (mRNA) श्रृंखला का टर्मिनेशन डी.एन.ए. (DNA) सिग्नल्स द्वारा होता है । डी.एन.ए. (DNA) से मिलने वाले टर्मिनेशन सिग्नल्स 2 प्रकार के होते हैं-

1. जो प्रोटीन अव्यवों द्वारा दिये जाते हैं रो (rho) ρ कहलाते हैं इसे ρ डीपेन्डेन्ट टर्मिनेशन होता है ।
2. जहाँ ρ की आवश्यकता नहीं होती है इन्हें ρ इनडीपेन्डेन्ट टर्मिनेशन कहते हैं । ρ एक प्रकार का प्रोटीन कहलाता है । सर्वप्रथम यह ई-कोलाई में देखा गया था । अधिकांश एम.आर.एन.ए. (mRNA) अणुओं का टर्मिनेशन इसी के द्वारा होता है । rho (ρ) डीपेन्डेन्ट व rho (ρ) इनडीपेन्डेन्ट के मध्य टर्मिनेशन होता है । दोनों प्रकार के टर्मिनेशन में द्वितीयक संरचना (secondary structure) पाया जाता है जो कि पेलीन्ड्रोमिक क्रम (Palindromic sequence) के कारण होता है जो इस प्रकार है-



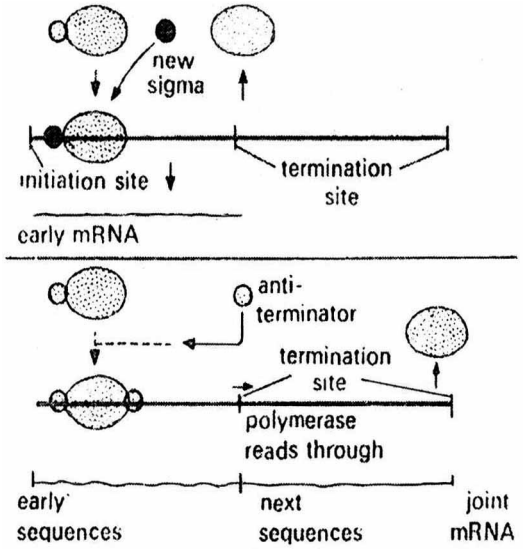
ये पेलीन्ड्रोम एक प्रकार का व्यत्क्रम दर्शाते हैं । पेलीन्ड्रोमस् में एम. आर. एन. ए. (m RNA) हेयरपीन्स Haripins) का निर्माण करते हैं । जो आर. एन. ए. (RNA) पोलीमरेज को धीमा कर अनुलेखन को रोकते हैं ।



चित्र 1.7 : rho (ρ) की क्रियाविधि

एण्टी-टर्मिनेशन अवस्था (Antitermination in Phage)

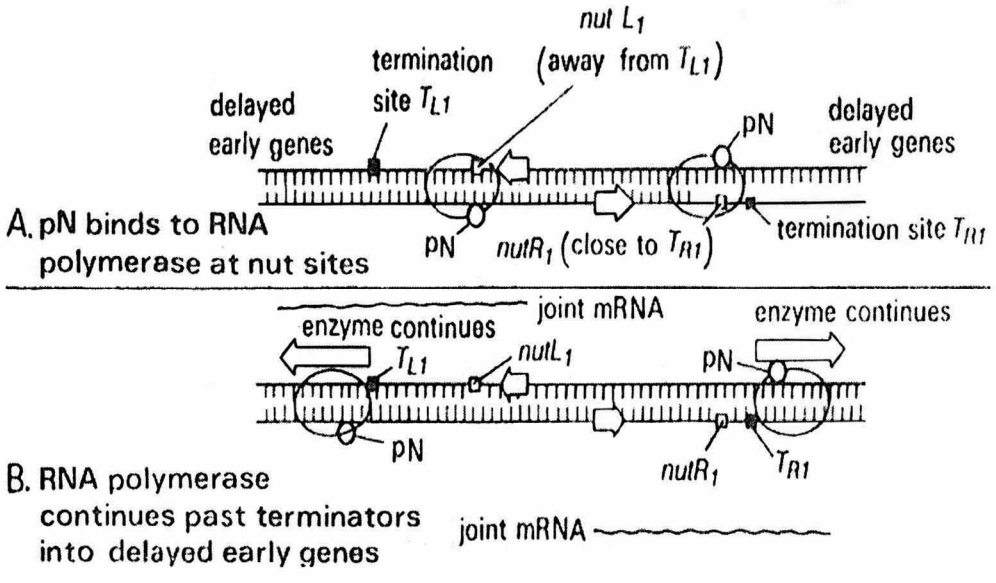
इनमें हर जीन सेट के लिए नये प्रोमोटर्स की आवश्यकता होती है जिससे अलग-अलग समय पर जीन अभिव्यक्त हो सके यह क्रिया नये सिग्मा (δ) अव्यवों द्वारा होती है । पूर्व, मध्य व पश्चात् जीन्स (Early,middle,late genes) एक क्रम में व्यवस्थित हो जाते हैं व एण्टीटर्मिनेटर के कारण टर्मिनेशन रूक जाता है ।



चित्र 1.8 एण्टीटर्मिनेटर की उपस्थिति व अनुपस्थिति में टर्मिनेशन

एण्टीटर्मिनेशन की प्रक्रिया (λ) फेज में होती है । यही पर एक पूर्व जीन एन (early gene N) होता है यह एण्टीटर्मिनेटर होता है । आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज T_{L1} व T_{R1} को पढ़ता है । इसी प्रकार पूर्व जीन (early) का उत्पाद क्यू (Q) जिसे पी.क्यू (PQ) कहते हैं यह पश्चात् जीन (late gene) का अनुलेखन (Transcription) करता है । एण्टीटर्मिनेशन प्रोटीन्स

जैसे पी.एन (pN) व पी.क्यू. (pQ), जीन अभिव्यक्ति हेतु केस्केड (cascade) का निर्माण करते हैं । प्रोटीन पी.एन. (PN) को डी.एन.ए. (site) साइट नट "nut' की आवश्यकता होती है । लेम्बडा फेज (Lambda phage) में नट आर (nutR), जो दायी ओर होता है व बायी ओर नट एल (nutL) होता है । नट आर (nutR), दायी ओर स्थित प्रोमोटर पी.आर (PR) के मध्य होता है पर टी आर वन (T_{R1}) के पास होता है । टी.आर.वन. (T_{R1}) बायी ओर का टर्मिनेटर होता है । यद्यपि नट एल, पी.एल., (nut L,P_L) व टी.एल. वन (T_{L1}) के मध्य होता है यह एन.जीन (N gene) के बहुत पास होता है व उससे भी अधिक टी.एल.वन (T_{L1}) के नजदीक होता है । नट साइट्स पी.एन. (nut sites PN), आर.एन.ए. पोलीमरेज से बंध जाता है । यहाँ पर एक अन्य प्रोटीन NusA यह रो (rho) (ρ) की तरह कार्य करता है परन्तु उसका स्थान नहीं ले सकता । यह प्रारम्भन के बाद सिग्मा को हटाता है व टर्मिनेशन में मदद करता है । चित्र 1.9



चित्र 1.9: ट्रांसक्रिप्शन अवस्था

(a) आर.एन.ए. पोलीमरेज से पी.एन प्रोटीन का जुड़ना

(b) पी.एन. प्रोटीन्स के कारण एण्टीटर्मिनेशन

6.2.4 यूकेरियोट्स में ट्रांसक्रिप्शन

यूकेरियोट्स में मल्टिपल आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज (Multiple RNA Polymerases in eukaryotes)

यूकेरियोट्स में 3 अलग न्यूक्लियर आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज होते हैं ये निम्न प्रकार से हैं-

(i) आर.एन.ए. पोलीमरेज I

(ii) आर.एन.ए. पोलीमरेज II

(iii) आर.एन.ए. पोलीमरेज III

ये तीनों आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज संवेदनशीलता (sensitivity) के अनुसार ट्रांसक्रिप्शन करते हैं । उदाहरण- (α amanitin) अल्का अमानीटीन । ये वृहद प्रोटीन (~ 500,000 डेल्टन्स) होते हैं ।

यूकेरियोट्स में ट्रांसक्रिप्शन का प्रारंभन

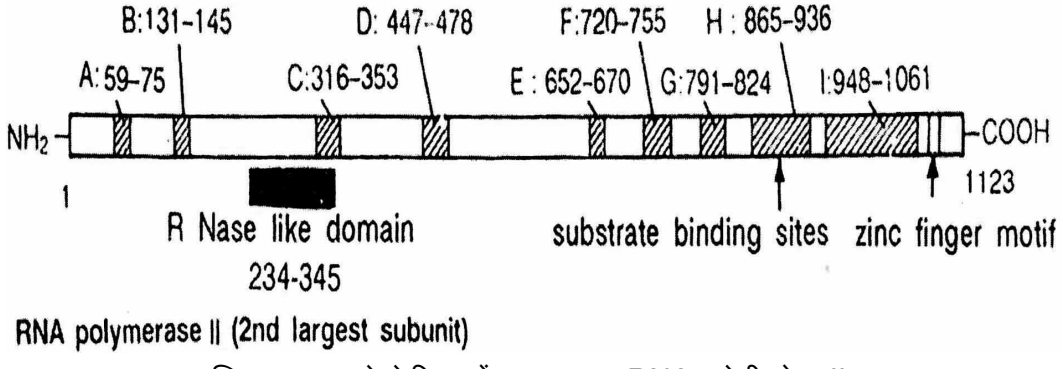
आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज I का प्रारंभ में प्रोमोटर के रूप में अध्ययन नहीं किया गया था । आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज III के लिए अन्य डाउन स्ट्रीम प्रोमोटर्स होते हैं । आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज II के लिए कई 100 यूकेरियोटिक जीन्स क्रम में होते हैं व ये प्रारम्भ बिन्दु पर स्थित होते हैं । ये -25Pd व -100pd में मध्य में स्थित होते हैं । ये तीनों रीजन टी.एटी.ए. (regions TATA) अथवा होगनेस बाक्स (Hogness box) (7pd long) पर स्थित होते हैं ये प्रारंभ बिन्दु से 20pd अपस्ट्रिम पर होते हैं । टी.ए.टी.ए. अथवा होगनेस (Hogness box) का क्रम -

$$\begin{matrix} & & A_{63} & & A_{50} \\ T_{82} & A_{97} & T_{93} & A_{85} & A_{83} \\ & & T_{37} & T_{37} & \end{matrix}$$

टी.ए.टी.ए. बाक्स, जी.सी. (TATA box) G-C) अधिकता वाले क्रम से घिरे होते हैं व प्रोकेरियोट्स के प्रोनोव बाक्स (probnow box) से तुलनीय होते हैं । अपस्ट्रिम में एक अन्य क्रम CAAT box कहलाता है जो कई प्रोमोटर्स का संरक्षण करता है । यह क्रम -70 व -80 क्षारक जोड़ो के मध्य होता है ।

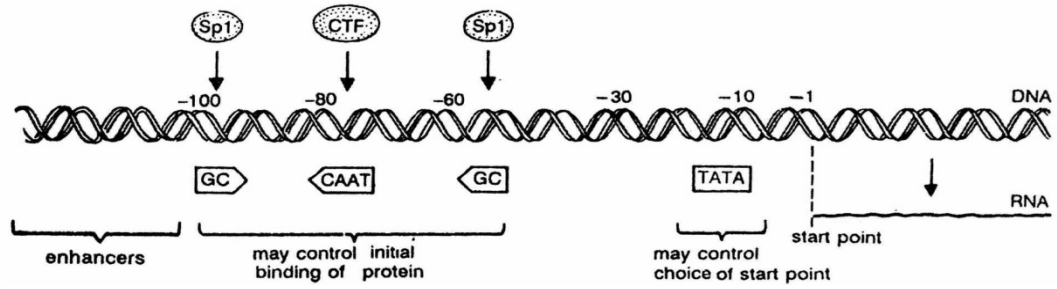
$$\begin{matrix} & & T & & \\ GG & & CAATCT & & \\ & & A & & \end{matrix}$$

एक अन्य क्रम जी.सी. बाक्स (GC box) कहलाता है यह एक व एक से अधिक -60 अथवा -100 bp अपस्ट्रीम पर पाए जाते हैं । जो कई जीन्स का उद्भव करते हैं । चित्र 1.10



चित्र 1.10 : ड्रोसोफीला में आर.एन.ए.(RNA) पोलीमरेज II

यूकेरियोटीक प्रोमोटर्स प्राय: 100 या 200 क्षारीय युग्म अपस्ट्रिम पर स्थित होते हैं । जो प्रोटीन्स के साथ क्रिया करते हैं व फिर आर.एन.ए. पोलीमरेज से क्रिया कर प्रोमोटर को नियंत्रित करते हैं । ये तत्व एनहेन्सर (enhancers) या अपस्ट्रिम सक्रिय स्थल या यू.ए.एस. (UAS) कहलाते हैं । ये एनहेन्सर 200 फोल्ड बढ़ाकर, ट्रांसक्रिप्शन दर को बढ़ा देते हैं । यहाँ अन्य तत्व जो साइलेन्सर (Silencers) भी होते हैं जो जीन अभिव्यक्ति को रोकते हैं । ये प्रोटीन्स के बध्यीकरण के स्थल होते हैं । अलग प्रोमोटर्स व एनहेन्सर्स की स्थिति निम्न प्रकार होती है।



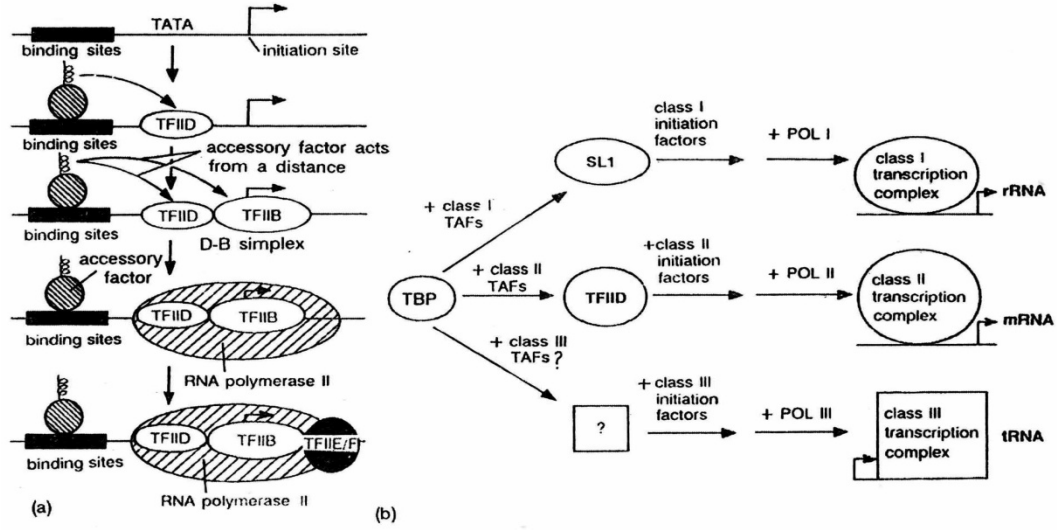
चित्र 1.11: यूकेरियोट्स में डी.एन.ए.(DNA) क्रम

6.2.5 यूकेरियोट्स में आर.एन.ए. संश्लेषण का प्रारम्भन

यूकेरियोट्स में आर.एन.ए. संश्लेषण, डी.एन.ए. क्रम द्वारा नियंत्रित होता है । आर.एन.ए. पोलीमरेज से डी.एन.ए. को बांधने हेतु ट्रांसक्रिप्शन अव्यव सहायता करते हैं । इसे ट्रांसक्रिप्शन संकुल (Transcription- promoter) कहते

आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज II से ट्रांसक्रिप्शन कॉम्प्लेक्स बनना

सामान्य जीन अभिव्यक्ति हेतु प्रोमोटर क्रम उत्तरदायी होता है इसे हाऊस कीपिंग जीन्स (House keeping genes) कहते हैं ये सभी कोशिकाओं में जेनेरिक प्रोमोटर (generic promoter) कहलाते हैं । चित्र 1.12

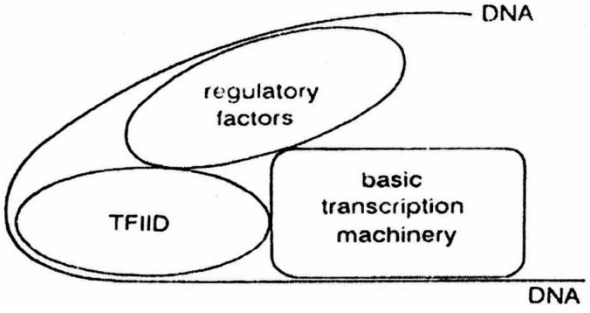


चित्र 1.12: (a) ट्रांसक्रिप्शन संकुल का बनना

(b) टी.बी.पी. (TBP) का टी.ए.एफ़.एस. (TAFs) से जुड़कर ट्रांसक्रिप्शन फैक्टर बनाना

टी.एफ.आई.आई.डी. (TFIID) व अन्य ट्रांसक्रिप्शन फैक्टर्स टी.बी.पी. (TBP) व टी.ए.एफ (TAF) की संरचना व कार्य

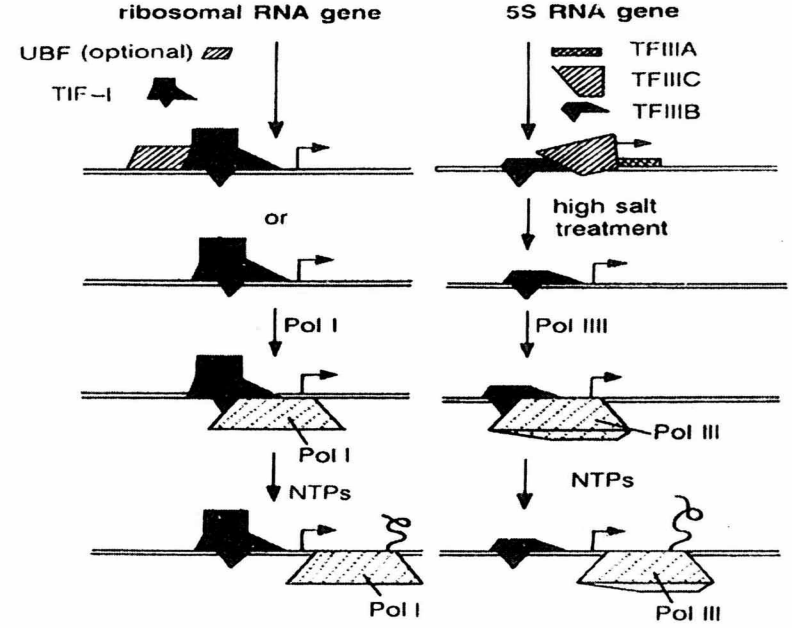
टी.एफ.आई.आई.डी. (TFIID) मल्टीप्रोटीन कॉम्प्लेक्स होता है । इसकी सबयूनिट टाटा बाईन्डिंग प्रोटीन्स (TATA binding proteins) (TBP)' है जो तीनों यूकेरियोटिक पोलीमरेज के लिए आवश्यक है । तीनों RNA पोलीमरेज के लिए टी.बी.पी. (TBP) व टी.ए.एफ.एस (TAFs) ट्रांसक्रिप्शन फैक्टर्स आवश्यक हैं । TFIID की टाटा बाक्स (TATA box) से बंध्यीकरण डी.एन.ए. बेन्डिंग को बताता है । यह डी.एन.ए. बेन्डिंग जो TFIID से हुई है, प्राकेरियोट्स में केप (CAP) के समान होती है । चित्र 1.13



चित्र 1.13 : टी.एफ़.आई.आई.डी. (TFIID) द्वारा डी.एन.ए. बंधन (DNA binding)

पूर्व प्रारंभन संकुल का निर्माण

ट्रांसक्रिप्शन का प्रारंभन आर.एन.ए. पोलीमरेज I (PolI) व आर.एन.ए. पोलीमरेज III (Pol III) द्वारा होता है । Pol I व Pol III के प्रारम्भन को चित्र 1.14 में दर्शाया गया है ।



चित्र 1.14 ट्रांसक्रिप्शन असेम्बली फैक्टर (assembly factor) व ट्रांसक्रिप्शन प्रारम्भन फैक्टर का आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज I व II की बंधन (binding) में उपयोग

पृथक डी.एन.ए. (DNA) बंध्यीकरण व ट्रांसक्रिप्शन सक्रिय डोमेन्स (Separate DNA binding and transcription activation domains)

इसमें डी.एन. बाईन्डिंग (DNA binding) क्षेत्र विशिष्ट प्रकार से DNA क्रम में एकत्र हो जाते हैं व जीन अभिव्यक्ति को नियमित करते हैं । डी.एन.ए. बंध कर अन्य आर.एन.ए. पोलीमेरेज से क्रिया करते हैं । इसी समय ट्रांसक्रिप्शन एक्टिवेशन क्षेत्र में प्रोटीन-प्रोटीन की पारस्परिक क्रिया होती है व ट्रांसक्रिप्शन का सक्रियण होता

डी.एन.ए. (DNA) बाइन्डिंग क्षेत्र (DNA binding domains)

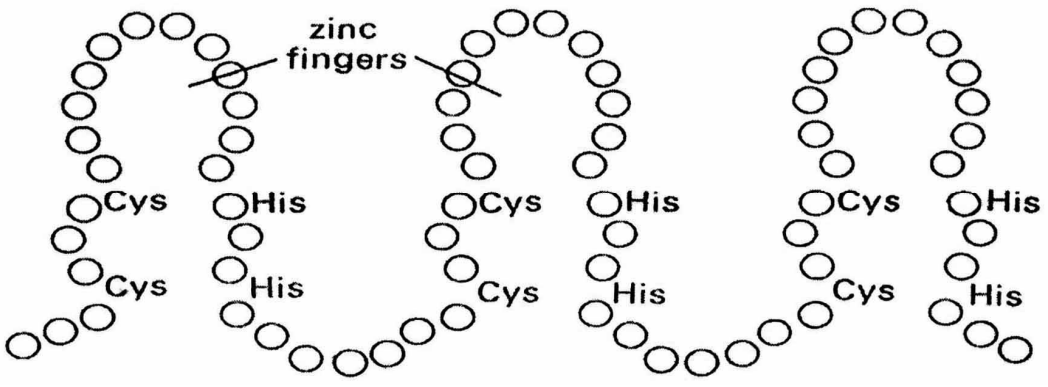
1. इसके प्रथम चरण में कई स्टेरॉइड रिसेप्टर्स सक्रिय हो डी.एन.ए. से बाइन्ड हो जाते हैं ।
2. इसमें जिंक फिंगर प्रथम बार उपस्थित होते हैं जो 5S rRNA का आर.एन.ए. पोलीमरेज III द्वारा ट्रांसक्रिप्शन करते हैं ।
3. ड्रोसोफिला व मेमल्स में हेलीक्स-लूप-हेलीक्स प्रथम बार देखा गया । यह अवस्था लेम्बडा (phage λ) में नियमित हुआ ।
4. हेलीक्स लूप-हेलीक्स डवलमेन्टल रेग्यूलेटसर्स की तरह कार्य करता है । कई यूकेरियोट्स में डी.एन.ए. (DNA) बाइडिंग प्रोटीन्स के कारण जीन अभिव्यक्त हो जीन कोडिंग करते हैं ।
5. हर 7वें स्थान पर ल्यूसीन्क जीपर (Leucine Zippers) ल्यूसीन्क रेसीड्यू के साथ अमीनों अम्ल कार्यरत रहते हैं ।

1. स्टेरिइड रीसेप्टर्स (Steroid receptors)

ये स्टेरॉइड हार्मोन्स जैसे रेटीनाइड्स विटामिन डी, थायरॉइड हार्मोन्स को नियंत्रित करते हैं । ये हार्मोन्स अलग क्षेत्र बनाकर हार्मोन बाइन्डिंग करते हैं । डी.एन.ए. बाइन्डिंग क्षेत्र 70 अमीनो अम्ल रेसीड्यू बनाते हैं इसमें 8 संरक्षित सीस्टीन (cysteine) रेसीड्यू मिलकर 2 जिंक फिंगर्स (Zinc fingers) बनाते है ।

2. जिंक प्रोटीन्स (Zinc Proteins)

कुछ प्रोटीन्स में जिंक बाइन्डिंग स्थल होते हैं । इनमें से एक अमीनो अम्ल के लूप को जिंक फिंगर पर फैलाकर जिंक बाइडिंग स्थल बनाते हैं ।



चित्र 1.15 : तीन जिंक फिंगर्स Cys_2/ His_2 की ट्रांसक्रिप्शन फैक्टर SP1 में स्थिति

जिंक फिंगर्स को Cys_2/His_2 Cys_2/Cys_2 फिंगर्स के रूप में दर्शाते हैं । इनका क्रम निम्न प्रकार से होता है-

$$Cys\text{-}X_2\text{-}4Cys\text{-}X_3\text{-}phe\text{-}X_5\text{-}Lue\text{-}X_2\text{-}His\text{-}X_3\text{-}His$$

हर फिंगर 23 अमीनो अम्ल युक्त होती है व अन्य 7-8 अमीनो अम्ल युक्त फिंगर से जुड़ती है । सम्पूर्ण प्रोटीन में ये टी.एफ.आई.आई.ए. (TFIIIA)से जुड़ी होती है व दूसरी ओर ये ए.डी.आर.आई. (ADRI) जिंक फिंगर बनाती

3. हेलीक्स टर्न हेलीक्स व होम्योडोमन (Helix Loop helix)

एच.टीइ.एच. प्रथम डी.एन.ए. (DNA) रिकोग्नेशन मोटीफ है । इसमें 20 रेसीड्यू क्रम α -हेलीक्स के साथ होते हैं । द्वितीय एच.टी.एच. (HTH) डी.एन.ए. बाइन्डिंग हेतु क्षारक-युग्म प्रदान करता है ।

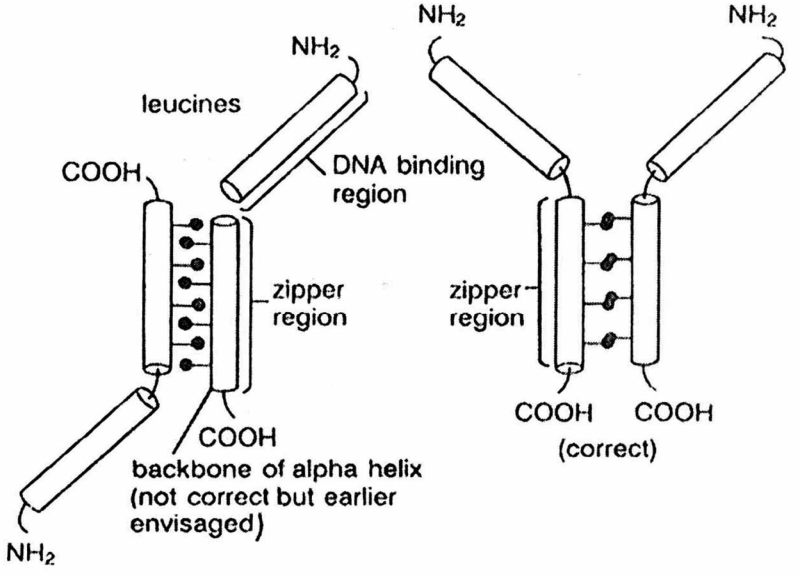
4. हेलीक्स लूप हेलीक्स (Helix Loop helix)

ये एच.एल.एच. (HLH) प्रोटीन्स ल्यूसीन जीपर के समान होते हैं ये डी.एन.ए. से सम्पर्क कर डीमर (dimer) क्षेत्र बनाते हैं । ये α -हेलीक्स (एक लूप) व द्वितीय हेलीक्स बनाता है । एच.एल.एच. (HLH) प्रोटीन्स विकास व पृथक्करण में विशेष योगदान देते हैं ।

5. ल्यूसीन जीपर, डीलर निर्माण व डी.एन.ए. बंध्यीकरण

(Leucine Zippers, dimer formation & DNA binding)

कई प्रोटीनों में ल्यूसीन जीपर देखा गया । ल्यूसीन, अमीनो अम्लों पर लम्बाई में होता है व हर 7वें स्थान पर पाया जाता है । यह एक (amphipathic alpha helix) एम्फीपेथीक एल्फा हेलीक्स बनाता है । (इसमें एक ओर हाइड्रोफोबीक व दूसरी ओर हाइड्रोफीलीक समूह होते हैं ।) क्लीन जींपर समान अणुओं में डीमर्स (dimers) बनाते हैं ।

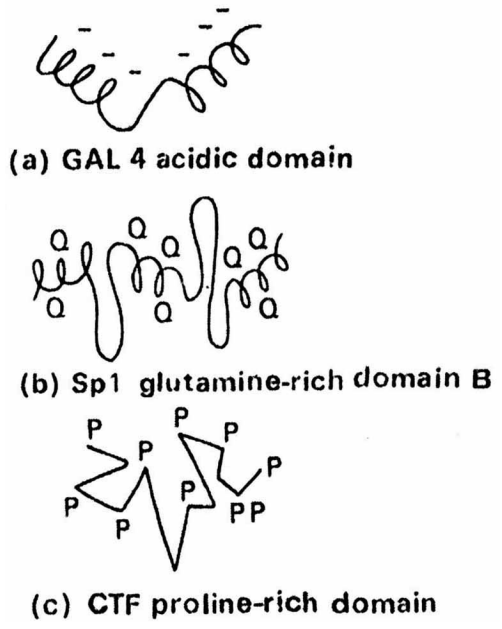


(a) Anti Parallel जिपरिंग (b) Parallel जिपरिंग

चित्र 1.16 Leucine जीपर्स

ट्रांसक्रिषान सक्रियण डोमैन्स (Transeription activation domains)

डी.एन.ए. बाइन्डिंग डोमैन्स बनाते हैं इसमें 30-100 अमीनो अम्ल होते हैं । एक्टिवेशन डोमन्स 3 प्रकार के होते है ।



चित्र 1.17 प्रोटीन डोमन्स के प्रकार

1. एसिडीक डोमैन्स Acidic domains

अम्लीय डोमैन्स सर्वप्रथम यीस्ट (yeast)में पाया गया GAL4 व GCN4 कहलाता है । बाद में यह ग्लूकोकोर्टीकोइड हार्मोन रिसेप्टर के रूप में पाया गया । ये अम्लीय डोमन्स टी.एफ.आई.आई.बी. (TFIIB) व टी.एफ.आई.आई.डी. (TFIID) के समन्वय (association) में मदद करते हैं ।

2. ग्लूटामाइन रीच डोमैन्स (Glutamine rich domains)

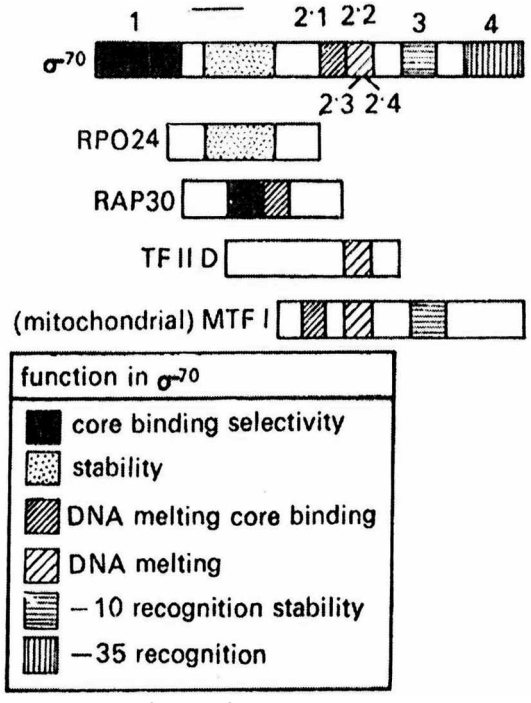
यह SP1 में सर्वप्रथम देखा गया बाद में ड्रोसोफिला व यीस्ट (yeast) में भी देखा गया ।

3. प्रोलीन रीच डोमैन्स (Proline rich domains)

यह CTF/NF-1 के रूप में पहचाना गया अन्य कई स्थनीयों में देखा गया है ।

प्राकेरियोटीक सिग्मा अव्यव व यूकेरियोटिक ट्रांसक्रिप्शन अवयव में समानता

आर.पी.ओ-24 (आर.एन.ए. पोलीमरेज)आर.ए.पी.30 (RAP 30) (दो प्रोटीन संकुल जो मानव आर.एन.ए. पोलीमरेज को बांधते हैं)टी.एफ.आई.आई.डी. (TFIID) टाटा बाक्स (TATA box) से जुड़ता है इस सभी में सिग्मा डोमेन्स की समानता है ये तीनों अव्यव चित्र 1.18 में दर्शाये गये हैं ।



चित्र 1.18 ई-कोलाई में सिग्मा फैक्टर के क्षेत्र

यूकेरियोटिक न्यूक्लियर आर.एन.ए. पोलीमरेज बैक्टिरियल आर.एन.ए. पोलीमरेज के समान है ।

यूकेरियोट्स में प्रोटीन श्रृंखला का ट्रांसक्रिप्शन अव्यव व दीर्घीकरण

ट्रांसक्रिप्शन के लिए आवश्यक प्रोटीन्स elongation factors कहलाते हैं जो कि आर.एन.ए. पोलीमरेज II के कार्य को तीव्र करते हैं । इस प्रकार के दो प्रोटीन्स (i) टी.एफ.आई.आई.एफ. (TFIIF) (जो आर.एन.ए. श्रृंखला बढ़ाता है) (ii) टी.एफ.आई.आई.एस. (TFIIS) (आर.एन.ए. श्रृंखला के 3' एन्ड पर हाइड्रोलाइटीक क्लीवेज बनाता है जो दीर्घीकरण रोकता है । प्रोकेरियोटिक दीर्घीकरण कारक जी.आर.ई.ए. व जी.आर.ई.बी. (elongation factors Gre A व Gre B) होते हैं । जो ई-कोलाई में देखे गए थे ।

2.2.6 यूकेरियोट्स में आर.एन.ए. संश्लेषण हेतु टर्मिनेशन

यूकेरियोट्स में ट्रांसक्रिप्शन में आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज II का टर्मिनेशन होता है, यह प्राकेरियोट्स में भी समान होता है । टर्मिनेशन स्थल एम.आर.एन.ए. (m RNA) के 3' एन्ड से दूर होते हैं । यह 3' end पोस्ट ट्रांसक्रिप्शनल क्लीवेज से बनते हैं । यह क्लीवेज स्नुर्प (Snurp) कहलाती है । 5 ' AAUAAA3' का क्रम यूकेरियोट्स के एम.आर.एन.ए. (mRNA) में पाया गया है । यह क्रम यूकेरियोट्स के सभी एम.आर.एन.ए. (mRNA) में सामान्य रूप से पाया गया है । इस क्रम में उत्परिवर्तन एम.आर.एन.ए. (mRNA) का दीर्घीकरण करता है । यह क्रम एम.आर. एन.ए. (mRNA) का संश्लेषण नहीं करते बल्कि 3'end बनाते हैं जो एण्डोन्यूक्लियस क्लीवेज बनाते हैं । इसमें स्नुर्प (snurp) अज्ञात रूप से मदद करते हैं ।

6.3 सारांश (Summary)

एम.आर.एन.ए. तथा विशिष्ट अमीनो अम्ल युक्त टी.आर.एन.ए. के संयुग्मन से प्रोटीन संश्लेषण होता है । इस क्रिया में एक विशिष्ट अमीनो अम्ल युक्त टी.आर.एन.ए. राइबोसोम पर पहले से ही आरोपित एम.आर.एन.ए. के विशेष स्थल की ओर आकर्षित हो इस स्थल से संयुग्मित हो जाता है । टी.आर.एन.ए. (tRNA) का संयुग्मन. mRNA त्रिक के क्षारकों के अनुरूप होता है अर्थात् एम. आर. एन. ए. के गुएनीन से टी. आर. एन. ए. (tRNA) का साइटोसीन क्षारक ही संयुग्मित होता है । शीघ्र ही एक अमीनो अम्ल युक्त टी.आर.एन.ए. (tRNA), एम.आर.एन.ए. (mRNA) के द्वितीय स्थल से जुड़ जाता है । परिणामतः प्रथम टी.आर.एन.ए. (tRNA) के अमीनो अम्ल व द्वितीय टी.आर.एन.ए. (tRNA) के अमीनो अम्ल परस्पर पेप्टाइड बंध द्वारा संयोजित हो एक डाइपेप्टाइड का निर्माण करते हैं । जैसे ही कोई टी.आर.एन.ए. अपने से संयुक्त अमीनो अम्ल को मुक्त करता है वैसे ही यह टी.आर.एन.ए. कोशिका द्रव से ऐसे ही अन्य अमीनो अम्ल के वाहन हेतु उपलब्ध हो जाता है । स्थानान्तरण प्रक्रिया में सम्पूर्ण टी.आर.एन.ए. अणु एक त्रिक इकाई के रूप में कार्य करता है । इसके क्षारकों का क्रम डी.एन.ए. जैसा होता है । यही कारण है कि यह क्रिया अनुवाद (translation) कहलाती है । यह क्रिया तब तक जारी रहती है जब तक कि एम. आर.एन.ए. (mRNA) की सभी त्रिकों से अमीनो अम्ल युक्त टी.आर.एन.ए. का संयोजन नहीं हो जाता है । इस क्रिया के पूरा होने पर डी.एन.ए. द्वारा पूर्व में प्रस्तावित प्रोटीन के एक अणु का संश्लेषण पूर्ण हो चुका होता है ।

इस प्रकार प्रोटीन संश्लेषण में डी.एन.ए. द्वारा नियंत्रण व निर्देशन दो रूपों में परिलक्षित होता है । प्रथम अनुलेखन अथवा एम.आर.एन.ए. का निर्माण व द्वितीय अनुवाद अथवा एम आर. एन. ए. तथा टी.आर.एन.ए. का संयुग्मन । टी.आर.एन.ए. का संयुग्मन एम.आर.एन.ए. के क्षारकों के अनु क्रमानुसार होता है, जिसका निर्माण डी.एन.ए. ही करता है । प्रोटीन संश्लेषण की प्रक्रिया में अमीनो अम्ल कच्ची सामग्री के रूप में आवश्यक है लेकिन इनका क्रमिक विन्यासन कर पोलीपेप्टाइड (प्रोटीन) का निर्माण करना डी. एन. ए. के निर्देश पर निर्भर है ।

महत्त्व

- ❖ प्रोटीन्स से ऊर्जा प्राप्त होती है ।
- ❖ अनेक प्रोटीन्स हारमोन्स के रूप में कार्य कर उपापचयी क्रियाओं को नियंत्रित करते हैं ।
- ❖ प्रोटीन्स शरीर की निर्माण इकाई (building unit) के रूप में कार्य करते हैं ।
- ❖ न्यूक्लियोप्रोटीन के प्रोटीन भाग आनुवांशिकी पदार्थ के रूप में कार्य करते हैं ।
- ❖ प्रोटीन्स प्रतिजन (Antigens) व प्रतिरक्षियों (Antibodies) के रूप में कार्य करते हैं ।
- ❖ प्रोटीन्स में संकुचनशीलता का गुण होता है जो जन्तुओं के गमन में सहायक होता है ।
- ❖ कई फाइब्रस प्रोटीन्स योजक ऊतकों के रूप में कार्य करते हैं ।
- ❖ प्रोटीन्स जैसे प्लाज्मा प्रोटीन्स व हीमोग्लोबिन रक्त प्रोटीन्स बनाते हैं ।

6.4 शब्दावली (Glossary)

1. व्युत्पन्न प्रोटीन

सरल प्रोटीनों के जल अपघटन के उत्पाद होते हैं ।

2. सेन्ट्रल डॉग्मा

वह संबंध जो न्यूक्लिक अम्लों द्वारा प्रोटीन संश्लेषण के नियंत्रण को दर्शाता है ।

3. अनुलेखन

डी.एन.ए. से एम.आर.एन.ए. में आनुवांशिक सूचनाओं का स्थानान्तरण अनुलेखन कहलाता है ।

4. अनुवादन

न्यूक्लिक अम्लों में उपस्थित भाषा का अनुवाद, अनुवादन कहलाता है ।

5. एनहेन्सर

क्षारीय युग्म जो आर.एन.ए. पोलीमरेज के साथ क्रिया कर प्रोमोटर को नियंत्रित करते हैं ।

6. ट्रांसक्रिप्शन संकुल

आर.एन.ए. पोलीमरेज से डी.एन.ए. को बांधने हेतु ट्रांसक्रिप्शन अवयव एक संकुल बनाते हैं । इसे ट्रांसक्रिप्शन संकुल कहते हैं ।

7. टी.एफ.आई.आई.डी. (TFIID)

यह एक प्रकार का मल्टिप्रोटीन कॉम्प्लेक्स होता है ।

8. पोल प्रथम (Pol I)

आर.एन.ए. पोलीमरेज प्रथम

9. पोल द्वितीय (Pol II)

आर.एन.ए. पोलीमरेज द्वितीय

6.5 संदर्भ ग्रन्थ (Reference)

1.	आनुवांशिकी	-	पी.के. गुप्ता
2.	वनस्पति विज्ञान	-	ज्ञानेन्द्र शर्मा
3.	पादप आकारिकी व जैव रासायनिकी	-	एन.बी. सक्सेना एम.एल. वर्मा बी.एल. चौधरी
4.	कोशिका जीव विज्ञान	-	सी.बी. पवार

6.5 बोध प्रश्न

वस्तुनिष्ठ प्रश्न

1. प्रोटीन शब्द किसके द्वारा दिया गया था-
   (अ) वाटसन (ब) जैकब्सन (स) मुल्डर (द) आकोआ
2. कोशिका में सर्वाधिक मात्रा में पाया जाता है-
   (अ) नाइट्रोजन (ब) प्रोटीन (स) ऑक्सीजन (द) कार्बन
3. संयुग्मी प्रोटीन का उदाहरण है-

(अ) ग्लाइकोप्रोटीन (ब) फाइब्रिन (स) हिस्टोन (द) पेप्टोन

4. जीन अभिव्यक्ति में मुख्य रूप से सक्रिय होते हैं-

(अ) माइटोकॉण्ड्रिया (ब) आर.एन.ए. (स) उत्तक (द) आर.बी.सी.

5. प्रोटीन का जैव संश्लेषण किसके द्वारा नियंत्रित होता है-

(अ) आर.एन.ए. (ब) जीन (स) केन्द्रक (द) डी.एन.ए.

6. टी.एफ.आई.आई.डी. (TFIID) होता है-

(अ)मल्टीप्रोटीन कॉम्प्लेक्स (ब)न्यूक्लियोप्रोटीन (स)ग्लाइकोप्रोटान (द) पेप्टोन

7. यूकेरियोट्स में कितने प्रकार के RNA पोलीमरेज होते हैं-

(अ) 4 (ब) 3 (स) 2 (द) 6

8. एम.आर.एन.ए. (mRNA) हेयरपिन्स का कार्य है-

(अ) आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज को धीमा करना

(ब) टर्मिनेशन को बढ़ाना

(स) आर.एन.ए. (RNA) पोलीमरेज को तीव्र करना

(द) डी.एन.ए. (DNA) टेम्पलेट बनाना

6.7 बोध प्रश्नों के उत्तर

1.	स	5.	द
2.	ब	6.	अ
3.	अ	7.	ब
4.	ब	8.	अ

6.8 अभ्यासार्थ प्रश्न

अ. अतिलघुत्तरात्मक प्रश्न

1. जीन अभिव्यक्ति में प्रोटीन की भूमिका समझाइये ।
2. प्रोटीन के प्रमुख 5 कार्य बतलाइये ।
3. सेन्ट्रल डोग्मा का रेखाचित्र बनाइये ।
4. जिंक प्रोटीन्स का कार्य बताइये ।

ब. वृहद प्रश्न

1. यूकेरियोट्स में प्रोटीन संश्लेषण का वर्णन करें ।
2. प्राकेरियोट्स में प्रोटीन संश्लेषण का वर्णन करें ।
3. डी.एन.ए. बाइडिंग डोमैन्स को विस्तार से बताइये ।

इकाई - 7

जैवतकनीक एवं पादप उत्तक संवर्धन

(Biotechnology and plant Tissue Culture)

इकाई की रूपरेखा

7.0 उद्देश्य

7.1 प्रस्तावना

7.2 जैवतकनीकी

7.2.1 परिभाषा व इतिहास

7.2.2 परिचय

7.3 पादप उत्तक संवर्धन

7.3.1 संवर्धन माध्यम

7.3.2 माध्यम तैयार करना

7.3.3 निर्जमीकरण एवं संवर्धन तकनीक

7.3.4 टोटीपोटेंसी अवधारणा

7.3.5 विभेदन एवं अंग प्रवर्धन

7.3.6 बोध प्रश्न

7.4 सारांश

7.5 शब्दावली

7.6 संदर्भ ग्रंथ

7.7 बोध प्रश्नों के उत्तर

7.8 अभ्यासार्थ प्रश्न

7.0 उद्देश्य (Objective)

जैवतकनीकी विज्ञान की वह शाखा है, जिसके द्वारा जीवित जीवों का उपयोग लाभकारी उत्पादों के निर्माण में किया जाता है । इस जैवतकनीक विज्ञान ने कृषि विज्ञान, वन विज्ञान, उद्यान, कृषि, दवाईयों, स्वास्थ्य व वातावरण के सुधार में महत्वपूर्ण योगदान दिया है ।

जैवतकनीकी की एक शाखा है पादप उत्तक संवर्धन जिसके द्वारा किसी भी पादप उत्तक को कृत्रिम संवर्धन माध्यम पर पूतिरोधी (asceptic condition) परिस्थिति में कांच के पात्र में (In vitro) उगाया जाता है ।

इस पाठ में निम्न बिन्दुओं पर चर्चा की गयी है-

1. जैवतकनीक - परिभाषा व इतिहास
2. जैवतकनीक - परिचय

3. पादप उत्तक संवर्धन
4. संवर्धन माध्यम
5. संवर्धन माध्यम तैयार करना
6. निर्जीमीकरण व संवर्धन तकनीक
7. टॉटीपोटेंसी अवधारणा
8. विभेदन व अंग प्रवर्धन

7.1 प्रस्तावना (Introduction)

जैवतकनीकी, विज्ञान की सबसे युवा व महत्वपूर्ण शाखा है । इस शाखा के द्वारा जीवित जीवों का उपयोग मानव उपयोग में आने वाले उत्पादकों के निर्माण में किया जाता है ।

जैवतकनीक के द्वारा जीवाणुओं, शैवालों, कवकों, यीस्ट व उच्च श्रेणी के पादपों व जंतुओं के विभिन्न घटकों को अलग किया जाता है व इनका उपयोग लाभदायक उत्पादों के निर्माण में किया जाता हे ।

जैव तकनीक की एक महत्वपूर्ण शाखा है, पादप उत्तक संवर्धन, जिसकी अवधारणा है कि कोशिका सजीवों की कार्यात्मक इकाई होती है तथा किसी भी जीव की कोशिका पूर्णशक्त होती है, अर्थात् एक कोशिका स्वयं को एक पूर्ण जीव में परिवर्धित करने में सक्षम होती है । इस संवर्धन के द्वारा पादप के किसी एक भाग से कम समय, कम स्थान पर बहुत सारे पादपों का निर्माण किया जा सकता है जो कि वातावरणीय परिस्थितियों में सम्भव नहीं है ।

इस विधि में सर्वप्रथम उचित संवर्धन माध्यम तैयार किया जाता है व फिर पादप के किसी एक भाग को जिसमें पूर्णशक्त की क्षमता हो कर्त्तोतक के रूप में संवर्धन माध्यम में स्थापित किया है व फिर उचित नियंत्रित परिस्थितियां प्रदान कर पादप प्राप्त किये जाते है ।

7.2 जैवतकनीक (Biotechnology)

7.2.1 जैवतकनीक परिभाषा व इतिहास

जैवतकनीक (Biotechnology) शब्द कार्य इरेके द्वारा 1919 में दिया गया था । जैवतकनीकी विभिन्न प्रकार की विज्ञान की शाखा जैसे कोशिका विज्ञान, वनस्पति विज्ञान, आनुवंशिकी, जीव विज्ञान और विभिन्न प्रकार की शाखाओं का सम्मिलित रूप हैं ।

अमरीका की I.C.B (Interdepartmental Committee on Biotechnology) ने जैव तकनीकी को परिभाषित किया 'उसके अनुसार'- वैज्ञानिक व अभियांत्रिकी विज्ञान का उपयोग जैविक क्रियाओं द्वारा लाभदायक उत्पादों के निर्माण में करना हैं ।

जैव तकनीकियों का उपयोग स्वास्थ्य, भोजन व कृषि उद्योगों, कृषि विज्ञान ऊर्जा व रासायनिक उद्योगों में किया जा रहा है । इसका प्रयोग प्रमुख रूप से निम्नलिखित में किया जाता है-

- किण्वन (Fermentation)
- एन्जाइमेटिक अभियांत्रिकी (Enzymatic Engineering)
- आनुवंशिक अभियांत्रिकी (Genetic Engineering)

– कोशिका संवर्धन (Cell- culture)

7.2.2 इतिहास (History)

विज्ञान की शाखा के रूप में, जैवतकनीकी विज्ञान की उत्पत्ति सन् 1960 में मानी जाती है क्योंकि 1960 से जैवतकनीकी द्वारा कई रासायनिक व औषधीय उत्पादों के उत्पादन में परिवर्तन हुआ ।

हालांकि जैवतकनीकी विज्ञान का ज्ञान 600 B.C. पूर्व भी था । सूक्ष्मजीवों के किण्वन द्वारा बीयर का निर्माण प्राचीनकाल से होता आ रहा है ।

जैवतकनीकी के क्षेत्र में गति 1970 के दशक में आई जब कि रिस्ट्रिक्शन एंजाइम की खोज हुई जिससे विभिन्न प्रकार के जीन तकनीकों का विकास हुआ जिसे इस सदी की क्रांति माना गया ।

1978 - लगभग 500 प्रोटीन्स में अमीनों अम्ल के क्रम को ज्ञात किया गया ।

1979 - इटाकोरा (Itakaura) द्वारा मानव आनुवंशिकी का प्रदर्शन

1981- गिलबर्ट ने एक सप्ताह में 1000 न्यूक्योटाइड के क्रम को ज्ञात किया ।

1980 - मानव इंसुलिन का व्यवसायिक उत्पादन (Elililly and Co.)

1981 - शब्द Somaclonal Variation की उत्पत्ति

1983 - पॉलिमरेस चेन रियेमान की अवधारणा (Kary Mullis)

1984 - आनुवंशिक अंगुलीछापन (genetic finger printing) का विकास (Jeffreys)

1987 - बैक्टीरिया से Bt gene का पृथक्करण

1990 - Human Genome Project प्रारम्भ

1995 - D.N.A. अंगुलीछापन का विकास AFLP विधि द्वारा

2001 - मानव जीनोम प्रोजेक्ट की सफलता

7.3 पादप उत्तक संवर्धन

7.3.1 संवर्धन माध्यम

वे पोषक पदार्थ जो कृत्रिम परिस्थितियों (in vitro) में ऊतकों की वृद्धि में सहायता प्रदान करते है, संवर्धन माध्यम कहलाते है ।

एक प्रारूपिक माध्यम में गुरू (Macro) व सूक्ष्म (Micro) मात्रिक तत्वों के अकार्बनिक लवण, विटामिन्स, अमीनो अम्ल व शर्कराऐं होती है । इसमें कुछ वृद्धि नियमक (growth regulator) जैसे ऑक्सीन, साइटोकाइनिन एवं जिबेरलीन्स भी एकल एवं मिश्रित अनुपात में मिलाते है । माध्यम को तरल बनाने के लिए आसुत जल व ठोस बनाने के लिए 08% अगार-अगार (agar-agar) मिलाया जाता है । इसका pH सदैव 5.5$\pm$0.2 ०2 (अम्लीय) रखा जाता है । पादप उत्तकों को संवर्धित करने के लिए समय-समय पर कई प्रकार के माध्यम काम में लिये गये, लेकिन सबसे ज्यादा प्रयुक्त संवर्धन माध्यम एम.एस. माध्यम (MS medium)है, जो मुराशिगो व स्कूग (1962)ने बनाया था अन्य है व्हाईट, B-5 माध्यम गेम्बोर्ग व साथियों ने, 1969-

नित्श, 1972- सेन्क व हिल्डेब्रान्ट एवं 1980 में लॉयड एवं मेक्काउन (Woody plant medium) ने भी संवर्धन माध्यम बनाकर विभिन्न पादप ऊतकों का संवर्धन किया ।

एक पोषक माध्यम में निम्न प्रकार के घटक हो सकते हैं-

1. **अकार्बनिक घटक** (Inorganic components पादप ऊतकों के संवर्धन हेतु कई लघु व दीर्घ तत्वों की आवश्यकता पड़ती है । ज्यादातर पोषक माध्यम में 25mM नाइट्रेट व 2-20 mM पोटेशियम मात्रा में डाला जाता है ।

   सूक्ष्म तत्वों में आयोडीन, बोरॉन, मैंगनीज, जिंक, मोलीब्लेडनम, कीपर, कोबाल्ट व आइरन काम में लिया जाता है ।
2. **कार्बन स्त्रोत-** पोषक माध्यम में ग्लूकोस, फ्रक्टोस, माल्टोस व सूक्रोज काम में ली जाती है । लेकिन सूक्रोज (2-4%) मुख्य रूप से पोषक माध्यमों में मिलाई जाती है, जो कि माध्यम में तुरन्त ग्लूकोस व फ्रक्टोज में विघटित हो जाती है ।
3. **विटामिन्स-**संवर्धन करने वाली कोशिकाओं को थाइमिन पाइरीडोक्सीन, निकोटिनिक अम्ल, पेन्टोथीनिक अम्ल, बॉयोटिन एवं फोलिक अम्ल की आवश्यकता पड़ती है ।
4. **अमीनो अस्त-** सामान्यत: संवर्धन करने वाली कोशिकाएं सभी अमीनो अम्लों का निर्माण स्वयं कर सकती है । लेकिन नाइट्रोजन स्त्रोत के रूप में ग्लाइसीन, हाइड्रोलाइसेट यीस्ट निचोड़ (Yeast extract), पेप्टोन, माल्ट निचोड़ (malt extract) एवं नारियल दूध भी मिलाया जा सकता है ।
5. **वृद्धि नियमक-** ऑक्सीन साइटोकाइनिन जिबेरलिन्स व एब्सिसीक अम्ल की मात्रा प्रयोग की आवश्यकतानुसार मिलायी जाती है । कोशिका विभाजन के लिए ऑक्सीन (2,4-D, IAA,NAA,4,5-T) अंगजनन के लिए साइटोकाइनिन्स (काइनेटिन BAP व Zeatin) एवं मूलों की उत्पत्ति के लिए माध्यम में IBA या अन्य ऑक्सीन मिलाया जाता है ।

7.3.2 मुराशिगो व स्कूग का संवर्धन माध्यम

(i)	**अकार्बनिक घटक**	**मात्रा (mg/litre)**
	KNO_3	1900
	NH_4NO_3	1650
	$CaCl_2$	440
	$MgSO_4.7H_2O$	370
	KH_2PO_4	170
	$MnSO_4.4H_2O$	22.3
	H_3BO_3	6.2
	$ZnSO_4.4H_2O$	8.6
	$Na_2MoO_4.5H_2O$ c	0.025
	$CuSO_4.5H_2O$	0.025

$CoCl_2 6H_2O$	0.83
Kl	0.83
$FeSo_4.7H_2O$	27.8
Na_2EDTA	37.3

(EDTA-Ethylene diamine tetra acetic acid)

(ii) **कार्बनिक घटक**

Niacin	0.5
Glycine	2.0
Pyridoxine HCl	0.5
Thiamine HCl	0.1
Myo-inositol	100.0
Surcrose	30.000

(iii) **वृद्धि नियमक : प्रयोग की आवश्यकतानुसार**

(iv) **Agar-Agar(8.0g/litre)**

pH	0.8%

संवर्धन माध्यम बनाने के लिए उपरोक्त सभी रासायनिक पदार्थो का संग्रह विलयन बनाकर उसमें से प्रति लीटर के अनुसार उसकी मात्रा ले लेते हैं । इसे हल्का गर्म करके 0.8% अगार-अगार घोल लेते हैं । तत्पश्चात् इसे 1.0 लीटर तक आसुत जल द्वारा पूरा कर, इसका pH 5.8 निश्चित कर लेते है । इस संवर्धन माध्यम को अब संवर्धन परखनली (20.ml tude) एवं संवर्धन फलास्क (25-40 ml/flask) में भर कर ऊपर रूई के प्लग द्वारा बन्द कर देते हैं । इसके बाद इन्हें ऑटोक्लेव में 121 डिग्री सेल्सियस पर 15 पाउण्ड (psi) दाब पर 20 मिनट तक निर्जमित कर लेते हैं । ऑटोक्लेव में दाब शून्य हो जाने पर इन्हें बाहर निकालकर माध्यम को ठण्डा कर लेते हैं

विभिन्न माध्यमों का संगठन (mg/l)

तत्व	MS	B_5	White	SH
NH_4NO_3	1650	-	-	-
$(NH_4)_2SO_4$	-	134	-	-
$(NH_4)H_2PO_4$	-	-	-	300
KNO_3	1900	2500	80	2500
$Ca(NO_3)_2 4H_2O$	-	-	288	-
$CaCl_2.2H_2O$	440	150	-	200
$MgSO_4.7H_2O$	370	250	737	400
$Na_2SO_4.10H_2O$	-	-	460	-

KH_2PO_4	170	-	-	-
$NaH_2PO_4.H_2O$	-	150	19	-
KCl	-	-	65	-
$FeSO_4.7H_2O$	27.8	27.8	27.8	15
Na_2EDTA	33.6	33.6	33.6	20
$MnSO_4.H_2O$	22.3	-	6.66	-
$MnSO_4.H_2O$	-	10	-	10
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6	2.0	2.67	1.0
H_3BO_3	6.2	3.0	1.5	5.0
KI	0.83	0.75	075	1.0
MoO_3	-	-	0.0001	-
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25	0.25	-	0.1
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	0.025	0.001	0.2
तत्व	MS	B_5	White	SH
$CoCl_2.6H_2O$	0.025	0.025	-	0.1
Myo-Inositol	100	100	-	1000
Nicotinic acid	0.5	1.0	0.5	5.0
Pyrodixine HCl	0.5	1.0	0.1	0.5
ThiamineHCl	0.1	10.0	0.1	5.0
Glycine	2.0	-	3.0	30.000
Sucrose	30,000	20,000	20,000	-
Kinetin	0.4-1.0	0.1	-	-
IAA	1.0-3.0	-	-	0.5
2,4-D	-	0.1-1.0	-	5.8
pH	5.7	5.5	5.5	0.1
	T.Murashigs And F. Skoog (1962)	O.L. gamborg, R.A. Miller & K. Ojhima (1968)	P.R. White (1963)	P.V. Schenk And A.C. Hildebrandt (1972)

7.3.3 निर्जमीकरण (Sterilization)

पादप ऊतक संवर्धन में यह बहुत आवश्यक है कि सभी प्रक्रम पूर्तिरोधी परिस्थितियों में सम्पन्न किये जावें । कई जीवाणु व कवकें संवर्धन माध्यम व प्रयोगनीय पदार्थ को दूषित कर सकते हैं । दूषण द्वारा पादप ऊतक नष्ट हो जाता है, क्योंकि दूषकों द्वारा कई विषैले पदार्थ उत्पन्न किये जाते हैं, जिससे पादप ऊतकों पर विषाक्त प्रभाव पड़ता है । इसीलिए प्रयोगशाला, उपकरणों व संवर्धन कक्षों में पूर्ण प्रतिरोधी वातावरण होना अत्यन्त आवश्यक हैं ।

संवर्धन माध्यम, कांच के पात्रों, कैंची, चिमटी एवं सूई आदि वस्तुओं को ऑटोक्लेव में 121^0C पर 20 मिनट तक निर्जमीकृत कर काम में लिया जाता है । लेमिनार फ्लो पर काम में आने वाली सभी वस्तुओं व उसकी मेज को स्प्रिट (एल्कोहॉल) से पोछ कर निर्जमीकृत किया जाता है । इसमें लगी UV ट्यूब द्वारा UV प्रकाश करके सभी वस्तुओं को निर्जमिकृत किया जाता है । पादप के संवर्धन किये जाने वाले ऊतक (कर्नोत्तक) को भी संरोपण से पूर्व विभिन्न रोगाणुनाशोयों द्वार निर्जर्मित किया जाता है । कर्नोत्तक के प्रक्षालन की अवधि एवं रोगाणुनाशी की सान्द्रता संरोप की कोमलता (Tenderness) देखकर निर्धारित की जाती हैं । सतह निर्जमीकरण के लिए प्रयुक्त विभिन्न रोगाणुनाशियों में से कुछ प्रमुख पदार्थ जैसे- सोडियम हाइपोक्लोराइट, पोटेशियम हाइपोक्लोराइट, मर्क्यूरिक क्लोराइड, ब्रोमीन जल, इथाइल एल्कोहॉल, हाइड्रोजन परऑक्साइड, सिल्वर नाइट्रेट आदि ।

संवर्धन की तकनीक (Technique of culture)

1. **कर्नोत्तक -** पादप ऊतकों का संवर्धन करने के लिए सर्वप्रथम उसका कर्नोत्तक तैयार किया जाता है । कर्नोत्तक के रूप में सामान्यत: पौधें की अनिर्धारित कोशिकाऐं जैसे वल्कुट तथा विभज्योत्तक कोशिकाऐं जबकि निर्धारित कोशिकाऐं जैसे कलिकाऐं मूल, स्तम्भ व पत्ती के टुकड़े, अंकुरित बीज व पर्वसन्धियों के टुकड़े काम में लिये जा सकते हैं । इन कर्नोत्तकों को माध्यम पर संरोपित करने से पूर्व इनका निर्जमीकरण आवश्यक है ।
2. **कैलस का' प्रारम्भन** - कर्नोत्तक का सतह निर्जमीकरण करने के पश्चात् इसे उपयुक्त संवर्धन माध्यम पर संरोपित कर संवर्धन कक्ष में उष्मायित कर दिया जाता है । कुछ समय पश्चात् कर्नोत्तक से अनियमित व असंगठित कोशिकाओं का समूह जन्म लेता है । इस अविभेदित कोशिकाओं के समूह को किण या कैलस कहते हैं ।

   कैलस की वृद्धि मुख्यत: कर्नोत्तक की प्रकृति, माध्यम के संघटन तथा उष्मायन के दौरान उपलब्ध पर्यावरणीय परिस्थितियों के पारस्परिक सम्बन्धों पर निर्भर करती है । कर्नोत्तक से कैलस बनने के प्रारंभिक दौर से ऊतक की उपापचयी क्रियाशीलता उच्च हो जती है क्योंकि इस समय ऊतक अपने आपको कोशिका विभाजन के लिए तैयार करता है । इसके पश्चात् कर्नोत्तक की कोशिकाऐं त्वरित विभाजन करके स्थायी प्रकृति से विभज्योत्तक के रूप में परिवर्तित हो जाती है । इसे निर्विभेदक अवस्था कहते हैं । इस अवस्था को हार्मोन द्वारा कृत्रिम रूप से लम्बित किया जा सकता है ।

3. **अंगजनन -** कैलस से विभिन्न अंगों जैसे मूल, स्तम्भ व पणों के विभेदन या निर्माण को अंगजनन (organogenesis or differetiation) कहते हैं ।

   अंगजनन हेतु आवश्यक उद्दीपन की प्राप्ति माध्यम के घटकों, विशेषत: हार्मोन स्वभाव एवं कर्नोत्तक द्वारा धारित स्वभाव पर निर्भर करती हैं । अंग विकास के दौरान कैलस की कोशिकाऐं विशिष्ट कार्य सम्पादन में सक्षम हो जाती है । विभेदन के दौरान सबसे महत्वपूर्ण घटना असंगठित कोशिकाओं में आनुवंशिक पुनः प्रोग्राम होना है जिससे कोशिकाऐं निश्चित दिशा में विभेदित होकर विशिष्ट कार्य सम्पन्न करती है ।

4. **पादपक का निर्माण व पर्यानुकूलन -** कैलस में अंगजनन के पश्चात् पादप का लघुरूप पादपक बन जाता है । पादपक का निर्माण कांच के पात्रों में संवर्धन माध्यम पर होता है, जिसे वापस प्राकृतिक परिस्थितियों में सफलतापूर्वक स्थानांतरण करना होता है । पादप ऊतक, संवर्धन की सफलता का यह मुख्य मानदण्ड होता है, क्योंकि कृत्रिम परिस्थितियों में (संवर्धन माध्यम पर) उत्पन्न पादपक बहुत ही नाप सहिष्णु होता है, सीधे प्रकृति में स्थानांतरण करने पर उसके मरने की संभावना अत्यधिक रहती है । इसीलिए इन पादपको को मिस्ट हाउस (एक प्रकार का ग्रीन हाउस) में अलग-अलग आर्द्रता की स्थितियों से गुजारते हुए दशानुकूलित किया जाता है तथा अन्त में इन्हें प्राकृतिक वातावरण में स्थानांतरित कर देते हैं ।

7.3.4 टोटीपोटेंसी अवधारणा (Totipotencey)

टोटीपोटेंसी अर्थात् पूर्णशक्तता से अभिप्राय है एक कोशिका की स्वयं को एक पूर्ण जीव में परिवर्धित करने की क्षमता है ।

इस अवधारणा को हम गाजर ऊतक संवर्धन को एक प्रारूपिक उदाहरण के रूप में लेकर अध्ययन कर सकते हैं ।

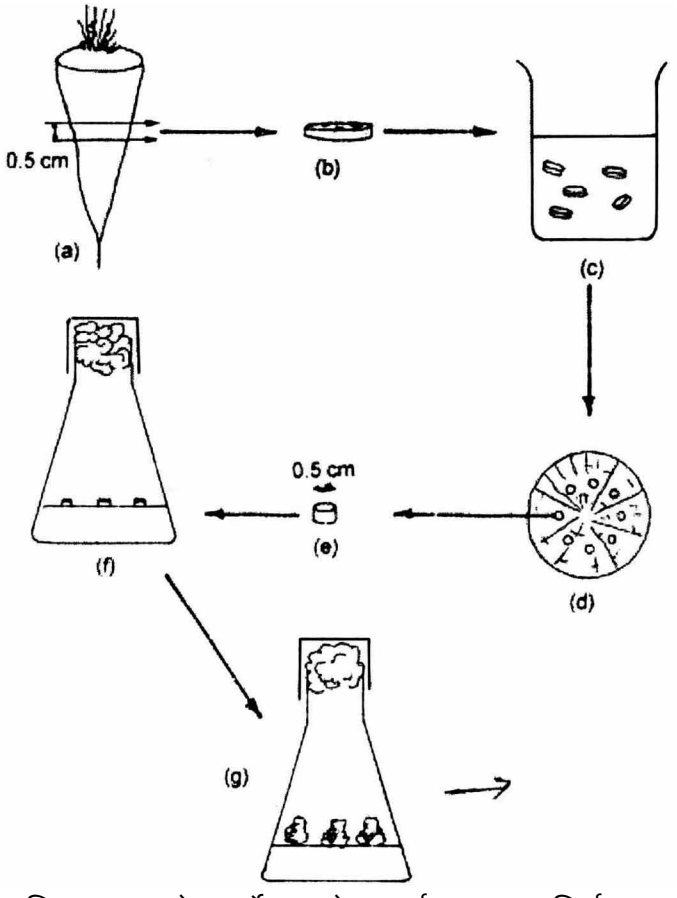
गाजर में मूसलामूल शंक्वाकार होती हैं, क्योंकि इसमें संचित भोजन भरा रहता है । ऊतक संवर्धन हेतु इसकी एधा की कोशिकाऐं काम में ली जाती है -

आवश्यक सामग्री- MS माध्यम, गाजर, आसुत, जल, बीकर, फ्लास्क, पेट्रीडिश, कार्क, चाकू आदि ।

विधि :

1. गाजर की मूसला मूल लेकर जल से अच्छी तरह धो लेते है तथा चाकू की सहायता से इसकी बाहरी सतह छीलकर अलग कर देते है ।
2. अब इस मूल की 5 -10mm मोटी अनुप्रस्थ काटें काटकर जल में रख लेते हैं ।
3. अब लेमिनार एयर फ्लो जहां पर संरोपण कार्य करना है, स्प्रिट से पौंछकर निर्जमीकृत कर -लेते हैं । बीकर से गाजर की काटों को निकालकर चिमटी से अन्य बीकर जिसमें तनु हाइपोक्लोराइट का तिलयन है डाल देते हैं तथा 10 मिनट तक इसमें रखते हैं ।
4. इसके पश्चात् इन काटों को तीन बार द्विआसुत जल से प्रक्षालित करके इन्हें वाटमेन या अन्य फिल्टर पत्र पर सुखा लेते हैं ।

5. अब इस प्रक्षालित फांक या काट को एक पेट्रीडिश में रख देते हैं तथा पूर्तिरोधी कॉर्क बोर से एधा क्षेत्र के टुकड़े बोर कर लिये जाते हैं । इन टुकड़ों को अर्द्धठोस / तरल संवर्धन माध्यम युक्त फ्लास्क में संरोपित कर दिया जाता है ।



चित्र : गाजर के कार्नोत्तक से सम्पूर्ण पादप का निर्माण

6. फ्लास्क को संवर्धन कक्ष में रैंक में या तरल माध्यम युक्त फ्लास्क को विलोडक पर रख देते है ।
7. कुछ दिनों के पश्चात् इन एधा के टुकड़ों में कैलस का निर्माण प्रारंभ हो जाता है तथा समूह बन जाता है ।
8. उपसंवर्धन के लिए इन कैलस के टुकड़ों को तरल माध्यम में हिलाकर खण्डित कर लिया जाता है तथा टुकड़ों को दूसरे फ्लास्क 'में नवीन माध्यम पर रख दिया जाता है ।
9. नवीन वृद्धि नियंत्रक उचित अनुपात में मिलाकर कर विभेदन व अंग प्रवर्धन कर पूर्ण पादप प्राप्त किया जाता है ।

7.3.5 विभेदन व अंग प्रवर्धन

पादप ऊत्तक संवर्धन में अंग प्रवर्धन विभेदन की एक प्रक्रिया है जिससे पादप अंगों जैसे जड़, तना, कलिका, पुष्प, पत्ती आदि का निर्माण होता हैं ।

अंग प्रवर्धन व अंग जनन

कैलस से विभिन्न अंगों जैसे मूल, स्तम्भ व पर्णो के विभेदन या निर्माण को अंगजनन कहते हैं ।

अंगजनन हेतु सम्भावित उद्दीपन की प्राप्ति माध्यम के घटकों, पादप के एक्सप्लान्ट (कर्नोतक) द्वारा धारित पदार्थो से हो सकती हैं ।

स्कूल (skoog1941) ने सर्वप्रथम यह बताया कि कैलस में अंगजनन का निर्धारण कुछ रासायनिक पदार्थो द्वारा किया जाता है ।

माध्यम में ऑक्सिन मिलाने पर मूल विकास (Root Initiation) उद्दीपित होता है जबकि प्ररोह विकास का मंदन (inhibition)होता है ।

पुन: माध्यम में सूक्रोज तथा अकार्बनिक फॉस्फेट की मात्रा बढ़ाने पर प्ररोह निर्माण उदीपित होता हैं । कैलस में अंगविकास साइटोकाइनिन तथा ऑक्सिन के संतुलन पर नियंत्रित होता है । सारांश में यह कहा जा सकता है कि मूल विकास या राइजोजेनेसिस (Root initiation or rhizogenesis)तथा प्ररोह विकास या कोलोजेनेसिस (shoot initiation or caulogenesis) ऑक्सिन साइटोकाइनिन अनुपात, कार्बोहाइड्रेट संभरण, कैलस उपसंवर्धन तथा पर्यावरणीय परिस्थितियों द्वारा नियंत्रित होता है ।

विभेदन (Differentiation) :

अंग विकास के दौरान अंगों की कोशिकाओं में विभेदन होता है, जिसे साइटोविभेदन (cyto-differentiation) कहते हैं ।

इसके अंतर्गत कोशिकाओं में अकारिकीय व जैव रासायनिक विशिष्टीकरण होता है । जिससे विभेदित कोशिकाऐं विशिष्ट कार्य सम्पादन में सक्षम बनती है ।

विभेदन के दौरान सबसे महत्वपूर्ण घटना कैलस की असंगठित कोशिकाओं में आनुवंशिक पुन: प्रोग्रामन होना होता है । जिससे ये कोशिकाऐं निश्चित दिशा में विभेदित हो विशिष्ट कार्यो को सम्पन्न कर सकें ।

सर्वप्रथम जाइलम विभेदन (Xylogenesis) के लिये माध्यम में ऑक्सिन, साइओकाइनिज़ या कार्बोहाइड्रेटों की उपलब्धता आवश्यक मानी जाती है । जाइलम के पश्चात् फ्लोएम का निर्माण होता है ।

7.4 बोध प्रश्न

प्रश्न 1- निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर दो :

रिक्त स्थान भरो :

1. मानव इन्सुलिन का व्यवसायिक उत्पाद..... द्वारा किया गया।
2. जैव तकनीक शब्द.....द्वारा..... में दिया गया ।
3. एक कोशिका के सम्पूर्ण पादप में परिवर्तित होने की क्षमता..... कहलाती है।
4. एम. एस. माध्यम..... ने बनाया था ।

प्रश्न 2 बहुविकल्पी प्रश्न

निम्न में से सही उत्तर कोष्ठक में लिखें :

1. पोषक माध्यम में ऑक्सीजन किसकी वृद्धि के लिए उत्तरदायी है ।

(अ) जड़ (ब) तना (स) पत्ती (द) पुष्प

2. पादप उत्तक संवर्धन में कैलस से जड़ का निर्माण कहलाता है-

(अ) राइजोजेनेसिस (ब) कोलोजेनेसिस (स)अंग प्रवर्धन (द) विभेदन

3. जैव तकनीकी शब्द दिया था-

(अ) जैफरी (ब)कैरी मुलिस (स) इटाकोरा (द) कार्ल इरेले

4. निम्न में से कौनसा कथन सत्य हैं-

(अ) पादप उत्तक संवर्धन के लिए निर्जमीकृत वातावरण आवश्यक है ।

(ब) जैवतकनीक विज्ञान की युवा शाखा नहीं हैं ।

(स) अंग प्रवर्धन व विभेदन द्वारा कैलस से पूर्ण पादप का निर्माण होता है ।

(द) नाइट्रेट, पोटेशियम संवर्धन माध्यम के अकार्बनिक घटक नहीं हैं

प्रश्न 3 निम्नलिखित प्रश्नों का संक्षिप्त में उत्तर दो :

1. बायोटेक्नोलॉजी को परिभाषित कीजिए?

.....

2. पादप ऊतक संवर्धन का क्या महत्व है?

.....

3. विभेदन से आप क्या समझते हैं?

.....

1.5 सारांश (Summary)

जैविक कारकों, जैसे सूक्ष्मजीवों (micro-organisms), तंतु एवं पादप कोशिकाओं (Cells) अथवा उनके अवयवों (components) के नियंत्रित उपयोग से मानव के लिए उपयोगी उत्पादों (products) या सेवाओं का उत्पादन बायोटेक्नोली है । स्पष्ट रूप से, बायोटेक्नोलॉजी में विज्ञान एवं इंजीनियरी के सिद्धांतों के उपयोग एवं जैविक कारकों की सहायता से उपयोगी उत्पादों /सेवाओं का उत्पादन किया जाता है ।

पादप ऊतक संवर्धन में पादप के विभिन्न अंगों से कर्नोत्तक (Explant) प्राप्त कर इनका कृत्रिम माध्यम पर संवर्धन कर कैलस प्राप्त किया जाता है व फिर कर्तोत्तक को उपयुक्त संवर्धन में रखने पर उत्तरोत्तर कोशिका विभाजन से सम्पूर्ण पादप प्राप्त किया जाता है ।

इस तकनीक के द्वारा कम समय व कम स्थान पर अधिक संख्या में पादप प्राप्त किये जा सकते है ।

इस विधि द्वारा विभिन्न औषधिय पादपों, विभिन्न विलुप्त प्राय: प्रजातियों को व्यापारिक स्तर पर उगाया जाता है ।

1.6 शब्दावली (Glossary)

(1) कैलस (Callus) - यह कोशिकाओं का एक असंगठित व अविभेदित समूह है जो संवर्धन माध्यम पर कर्नोतक (Explant) के रखने से बनता है ।

(2) कर्नोतक (Explant) -पौधों के पृथक्कित भागों (जड़, तना, पत्ती व अन्य के ऊतक जो कि संवर्धन हेतु काम में लिये जाते हैं ।)

(3) उपसंवर्धन (Subculture) -कैलस या अन्य संवर्ध को छोटे-छोटे टुकड़ों में विभाजित कर अन्य संवर्धन माध्यम पर स्थानान्तरण करना, जिससे बाद में संवर्धन होता है । इसे उपसंवर्धन कहते हैं ।

(4) कोशिका निलम्बन संवर्धन (Cell Suspension Culture) -कैलस ऊतक के प्रक्षोभन से बनने वाले छोटे टुकड़ों को तरल संवर्धन माध्यम पर संवर्धित करना, कोशिका निलम्बन संवर्धन कहलाता है ।

(5) एकल कोशिका संवर्धन (Single cell culture) - एक पृथक्कित पादप कोशिका जैसे परागकण, जीवद्रव्यक, को संवर्धित कर पूर्ण पादपक का निर्माण एकल कोशिका संवर्धन कहलाता है ।

(6) जीवद्रव्यक (Protoplast) - कोशिका भित्ति रहित कोशिका को जीवद्रव्यक को कहते हैं ।

(7) जीवद्रव्यक संवर्धन (Protoplast culture) -किसी भी पादप कोशिका को कोशिका भित्ति रहित करने के पश्चात् संवर्धन माध्यम पर संवर्धित करना, जीव द्रव्यक संवर्धन कहलाता है ।

(8) अंग संवर्धन (Organ culture)-किसी भी पादप के विभिन्न अंगों जैसे जड, तना, पत्ती, भ्रूण, अण्डाशय, भ्रूणपोष आदि को संवर्धन माध्यम पर संवर्धित करके पादपकों का निर्माण करना, अंग संवर्धन कहलाता है ।

(9) विभाज्योतक संवर्धन (Meristem Culture) -जब किसी पादप के विभाज्योतक ऊतक को संवर्धन माध्यम पर संवर्धित कर पादपकों का निर्माण किया जाता है तो विभज्योत्तक संवर्धन कहलाता है ।

(10) संवर्धन माध्यम (Culture medium)-वे पोषक पदार्थ जो कृत्रिम परिस्थितियों (In vitro) में ऊतकों की वृद्धि में सहायता प्रदान करते हैं, संवर्धन माध्यम कहलाते हैं ।

(11) अंगजनन (Reference Books) -किसी भी पादप ऊतक से संवर्धित कैलस से विभिन्न अंगों जैसे मूल स्तम्भ व पर्णों में विभेदन या निर्माण अंगजनन कहलाता है ।

1.7 संदर्भ ग्रंथ (Reference Books)

1. अणु जीव विज्ञान एवं जैव प्रौद्योगिकी- डी. एम.एल.वर्मा
2. आनुवंशिकी एवं जैवतकनीकी- पी.एल. पारिख
3. Introduction to plant biotechnology -H.S. Chawla
4. Introduction to plant tissue culture- M.K. Razdan

5. बायोटेक्नोलॉजी- बी.डी. सिंह

1.8 बोध प्रश्नों के उत्तर

1. इली-लिली व सहयोगी
2. कार्ल इरेके, 1919
3. टोटीपोंटेसी
4. मुराशिगो व स्कूग

प्रश्न 2

1. अ
2. अ
3. द
4. स

प्रश्न 3

1. वैज्ञानिक व अभियांत्रिकी ज्ञान का उपयोग जैविक क्रियाओं द्वारा लाभदायक उत्पादों के निर्माण में प्रयोग करने का विज्ञान ।
2. पादप ऊत्तक संवर्धन माध्यम प्रयोगशाला अवरथा में पादप को आवश्यक पोषक पदार्थ प्रदान करता है ।
3. अंग विकास के दौरान अंगों की कोशिकाओं का विशिष्ट कार्य के लिए अलग-अलग होना विभेदन कहलाता है ।

7.9 अभ्यासार्थ प्रश्न

प्रश्न 1 जैव प्रौद्योगिकी से आप क्या समझते है' इसकी ऐतिहासिक पृष्ठभूमि पर प्रकाश डालिए।

प्रश्न 2 निम्न पर संक्षिप्त टिप्पणियां लिखिये -

1. कर्नोतक
2. टोटीपोंटेसी
3. संवर्धन माध्यम
4. निर्जमीकरण

प्रश्न 3 निम्न में अंतर स्पष्ट कीजिये ।

1. अंगजनन व विभेदन
2. निर्जमित व अनिर्जमित अवस्था
3. Ms माध्यम व Bs माध्यक के घटक

प्रश्न 4 पादप ऊत्तक संवर्धन तकनीक के पदों को समझाइये ।

प्रश्न 5 बायोटेक्नोलॉजी का मानव कल्याण में क्या योगदान है ।

प्रश्न 6 पोषक माध्यम से आप क्या समझते है? इसके विभिन्न घटक कौन-कौन से है?

इकाई 8

प्रोटोप्लास्ट संवर्धन एवं कायिक संकरण व परागकोश संवर्धन (Protoplast Culture and Somatic Hybridization, Anther Anther Culture)

इकाई की रूपरेखा

8.0 उद्देश्य

8.1 प्रस्तावना

8.2 प्रोटोप्लास्ट संवर्धन एवं कायिक संकरण

- 8.2.1 प्रोटोप्लास्ट संवर्धन
- 8.2.2 प्रोटोप्लास्ट का विलगन
- 8.2.3 विलगन को प्रभावित करने वाले कारक
- 8.2.4 प्रोटोप्लास्ट संर्वधन
- 8.2.5 प्रोटोप्लास्ट से पुनर्जनन
- 8.2.6 पादप शोध में अनुप्रयोग

8.3 कायिक संकरण

- 8.3.1 प्रोटोप्लास्ट संगलन
- 8.3.2 संकर कोशिकाओं का वरण
- 8.3.3 संकर पौधों का पुनर्जनन
- 8.3.4 कायिक संकरण के अनुप्रयोग

8.4 परागकोष संवर्धन

- 8.4.1 परिचय
- 8.4.2 क्रियाविधि
- 8.4.3 पुंजनन
- 8.4.4 पोष पदार्थ

8.5 सारांश

8.6 शब्दावली

8.7 बोध प्रश्न

8.8 संदर्भ ग्रन्थ

8.9 बोध प्रश्नों के उत्तर

8.10 अभ्यासार्थ प्रश्न

8.0 उद्देश्य (Objective)

पादप कोशिकाओं के चारों ओर सेल्यूलोज की भित्ति उपस्थित रहती है तथा कोशिकाऐं आपस में पेक्टिन युक्त मध्यपटलिका से जुड़ी रहती है । प्रोटोप्लास्ट मुक्त करने के लिए सर्वप्रथम मध्यपटलिका को नष्ट कर कोशिकाओं को पृथक करना आवश्यक है, तत्पश्चात एन्जाइम या यॉन्त्रिक विधियों द्वारा प्रोटोप्लास्ट प्राप्त किये जाते है ।

क्लेरकेल (1892) ने द्रव्यकुंचित पादप कोशिकाओं को तेज धार वाली ब्लेड से काटकर प्रोटोप्लास्ट को पृथक करने के प्रयास किये थे । इस पर वास्तविक शोध 1960 में एन्जाइम विधि द्वारा कोशिका भित्ति को हटाने से शुरू हुआ । इन एन्जाइमों के व्यावसायिक उत्पादन के साथ ही इस विधि का विस्तृत पैमाने पर उपयोग शुरू हो गया । तकाबे तथा सहयोगियों (1968) ने इन्हीं व्यावसायिक एन्जाइमों का उपयोग कर प्रोटोप्लास्ट विलगन किया तथा तम्बाकू के मीसोफिल प्रोटोप्लास्ट से पुनर्जनन द्वारा पूर्ण पादप प्राप्त किया । कार्लसन तथा सहयोगियों ने सर्वप्रथम अन्तर स्पीशीज कायिक संकर (निकोटियाना ग्लाउका एवं नि. लौग्सडोर्फी) के प्रोटोप्लास्ट का संगलन करके प्राप्त किया । मेल्वर व सहयोगियों (1978) ने आलू व टमाटर के प्रोटोप्लास्ट पृथक कर प्रथम अन्तर जेनेरिक संकर 'पोमेटो' प्राप्त किया । प्रोटोप्लास्ट संगलन की विभिन्न विधियों द्वारा कायिक संकर उत्पन्न कर पुनर्जनन द्वारा पूर्ण पादप किये गये । एक बार प्रोटोप्लास्ट विलगन व संगलन की विधियां स्थापित हो जाने के बाद इस क्षेत्र मे तेजी से विकास हुआ । वैज्ञानिकों ने इस तकनीक का उपयोग पौधों को उन्नत करने के लिए जीन स्थानान्तरण में शुरू किया । तरकिन तथा काडो (1977) में ई. कोलाई जीवाणु के प्लेज्मिड (pBR 313) को प्रोटोप्लास्ट में स्थानान्तरित किया जबकि डेली (1980) ने प्लाज्मिड DNA गुणों की अभिव्यक्ति को पादप कोशिका में दर्शाया । प्रोटोप्लास्ट संगलन (कायिक संकरण) द्वारा कई पराजीनी पौधों का विकास किया जा रहा है । पास्कोवस्की व सहयोगियों (1984) द्वारा वरण योग्य चिन्हक जीन का उपयोग स्थानान्तरण प्रयोग मे करना एक ऐतिहासिक घटना थी जिसने पराजीनी पौधों का चयन करना बहुत सरल बना दिया । जन्तु कोशिकाओं में कोशिका भित्ति के अभाव होने से इसे सीधे ही संवर्धन माध्यम पर संवर्धीत कर कायिक संकर प्राप्त किये जाते है ।

परागकोष, पौधों में पुंकेसर का उर्वर भाग है, जिसमें नर बीजाणु (लघु बीजाणु) विकसित होते है । गुहा तथा माहेश्वरी (1964) ने दिल्ली विश्वविद्यालय में सर्वप्रथम परागकोषों का संवर्धन कर सीधे ही अगुणित पादप तैयार किये । कम समय में अगुणित पादप तैयार करने की विधि को समयुग्मज लाइन तैयार करने का नया आयाम बताया गया । टुलेके (1953) ने गिंगो बाइलोबा के परिपक्व परागकणों से अगुणित कैलस प्राप्त किया । 1966 में शिप्रा गुहा व सतीश माहेश्वरी ने पहली बार परागकणों से भी अगुणित पौधों का भ्रूणजनन द्वारा विकास करके इस क्षेत्र में क्रान्ति ला दी । बाद में बुर्जिन तथा निश्च ने तम्बाकू के पूर्ण अगुणित पादप तैयार किये ।

8.1 प्रस्तावना (Introduction)

कोशिका भित्ति रहित पृथक की गई पादप कोशिका को प्रोटोप्लास्ट (Protoplast) कहते है अत: प्रोटोप्लास्ट एक क्रियाशील कोशिका है जिसमें बाहरी परत प्लैज्जा झिल्ली है जो जीवद्रव्य तथा बाहरी वातावरण के बीच एकमात्र बाधा है । प्रोटोप्लास्टों को विभिन्न विधियों द्वारा पृथक कर उचित पोष पदार्थ पर संवर्धित किया जाता है तथा इन्हीं संर्वधक प्रोटोप्लास्ट के संगलन से आन्तर या अन्तर जातीय व जैनेरिक कायिक संकर प्राप्त किये जाते है । प्रोटोप्लास्ट संवर्धन व कायिक संकरण द्वारा कम समय में कम लागत पर अधिक संख्या में उच्च उपज देने वाली संकर जातियों का विकास किया जाना एकमात्र' उद्देश्य होता है ।

परागकोष तथा परागकण संवर्धन द्वारा अगुणित पौधे तैयार करना एक सरल व सफल तकनीक है । अगुणित पौधे पादपों की उन्नति के लिए बहुत ही महत्वपूर्ण है । इनका उत्परिवर्तन में तथा सम युग्मक पौधे तैयार करने में बहुत महत्व है । पारम्परिक प्रजनन कार्यक्रम बहुत ही थकाउ एवं समयुग्मक लाइनें तैयार करने में बहुत ज्यादा दक्ष नहीं है । ये विधियां परम्परागत फसलों में समकुमज पादप बनाने में बिल्कुल सफल नहीं है । परागकोष संवर्धन द्वारा न केवल अगुणित व समयुग्मजी लाईनें प्राप्त की जाती है बल्कि इसमें गुणसूत्रों के द्विगुणन (diplodization) द्वारा समजीवी द्विगुणित पादप एक ही पीढ़ी में तैयार किये जा सकते है । इस तरह तैयार किये गये समयुग्मज पादप जननक्षम होते हैं जिनका उपयोग अन्तः प्रजातक लाइनों के रूप में संकरण में आसानी से किया जा सकता है ।

8.2 प्रोटोप्लास्ट संवर्धन एवं कायिक संकरण (Protoplast Culture and Somatic Hybridization)

8.2.1 प्रोटोप्लास्ट संवर्धन (Protoplast Culture)

कोशिका भित्ति रहित पृथक की गई पादप कोशिका को प्रोटोप्लास्ट (Protoplast) कहते है । अतः प्रोटोप्लास्ट एक क्रियाशील कोशिका है जिसमें बाहरी परत कोशिका झिल्ली है जो जीवद्रव्य तथा बाहरी वातावरण के बीच एक मात्र बाधा है । सैल्यूलोज की कोशिका भित्ति की अनुपस्थिति के कारण दो समान या विभिन्न जातियों या वंशीय प्रोटोप्लास्टों तथा विलगन, संवर्धन कर संगलन कराया जा सकता है । प्रोटोप्लास्ट का संवर्धन निम्न बिन्दुओं के अंतर्गत किया जा सकता है-

8.2.2 प्रोटोप्लास्ट का विलगन (Isolation of Protoplast)

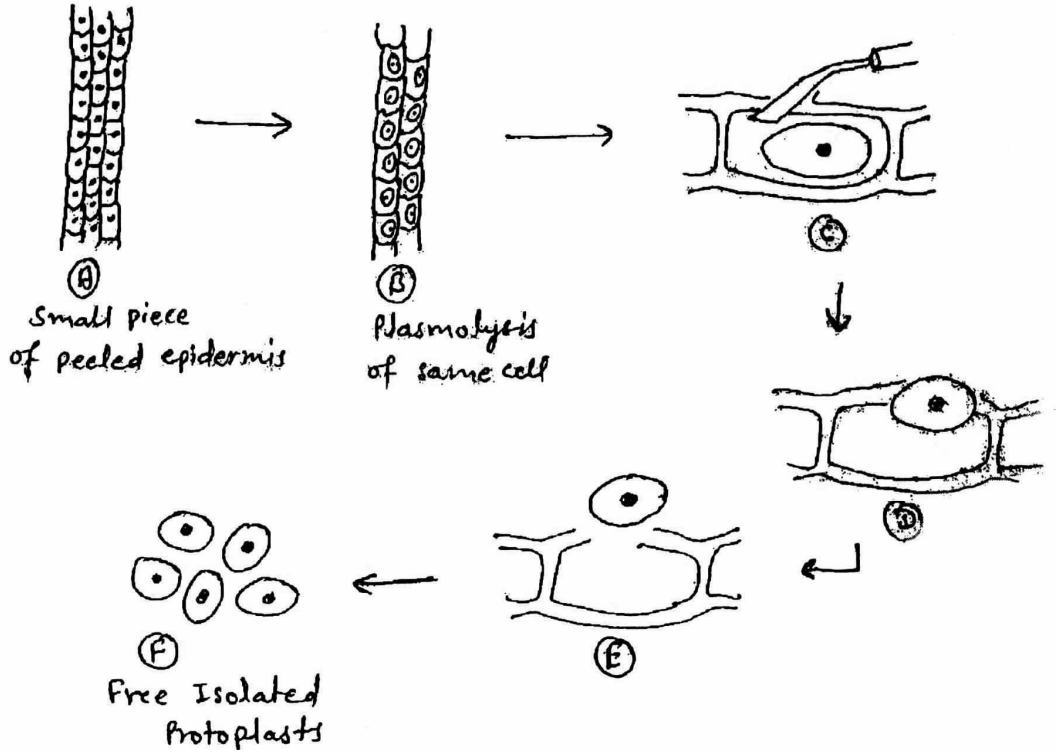
जन्तु कोशिका में कोशिका भित्ति की अनुपस्थिति के कारण उपरोक्त विधियां केवल पादप कोशिकाओं के प्रोटोप्लास्ट विलगन में प्रयुक्त की जाती है । प्रोटोप्लास्ट संवर्धन के लिए पादप के अलग अलग भागों या पादप उत्तक संवर्धनों से प्रोटोप्लाटों का विलगन किया जाता है जो निम्न होते है-

पादप उत्तक	-	तरूण पत्तियां, तने व जड़ें
पुष्पीय भाग	-	दल, जननिक अंग

कैलस कोशिकाएं	-	ढीले-ढाले कैलस उत्तक कोशिकाएं
निलम्बक संवर्धन	-	तेजी से वृद्धि करने वाली कोशिकाएं
निर्जमीकृत पादप	-	पत्तियां, तने व जड़ें

प्रोटोप्लास्ट का विलगन निम्न दो विधियों द्वारा किया जाता है -

(अ) यांत्रिक विधि (Mechanical Method): इसमें द्रव्यकुंचित कोशिकाओं की कोशिका भित्ति को तेज ब्लेड से काटकर प्रोटोप्लास्ट निकाला जाता है । आजकल इस विधि का उपयोग नहीं किया जाता क्योंकि इसमें अत्यधिक पादप कोशिकाओं द्वारा बहुत कम संख्या में ही प्रोटोप्लास्ट प्राप्त किये जाते है तथा अधिक समय खर्च होता है ।



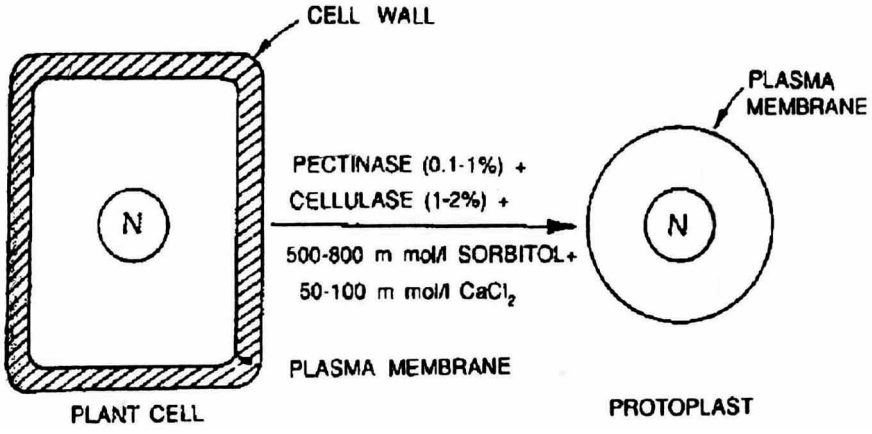
चित्र 1 - यांत्रिक विधि

(ब) एन्जाइमी विधि (Enzymatic Method): (कोकिंग व सहयोगी, 1960)

यह विधि प्रोटोप्लास्ट विलगन में सर्वाधिक उपयोग में ली जाती है । एन्जाइमों द्वारा विभिन्न पादप उत्तकों/भागों से निम्न प्रकार से विलगन किया जाता है-

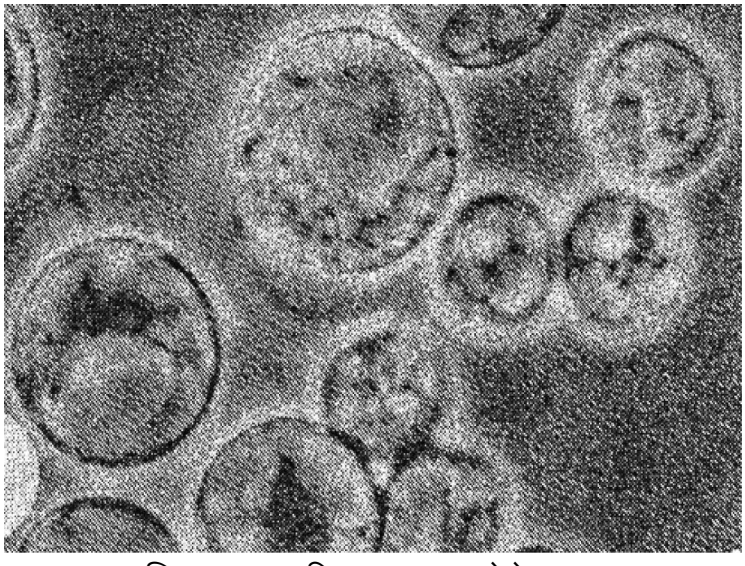
(i) पत्ती से प्रोटोप्लास्ट का विलगन (Isolation of Protoplast from leaf) : इसे निम्न चरणों में बांटा जा सकता है -

- पत्तियों का निर्जमीकरण ।
- निचली बाह्य त्वचा छीलकर हटाना ।
- पत्तियों के टुकड़े काट कर एन्जाइम विलयन में रखना ।
- प्रोटोप्लास्ट का विलगन तथा सफाई ।



चित्र 2- एन्जाइम उपचार द्वारा प्रोटोप्लास्ट उत्पादन

(ii) कैलस एवं कोशिका संवर्धन से प्रोटोप्लास्ट विलगन (Isolation of Protoplast from callus and cell culture) : पात्रे संवर्धित उत्तक निर्जमीकृत होते है अत: उन्हें प्रोटोप्लास्ट विलगन के लिए सीधे ही प्रयोग में लाया जा सकता है । वृद्धि चक्र के लोग अवस्था (log phase) में सक्रियता से वृद्धि करते हुए संवर्धित प्रोटोप्लास्ट विलगन के लिए उत्तम रहते है । साधारणतया एक ग्राम कैलस लेकर प्रोटोप्लास्ट विलगन के कारकों को धीरे-धीरे इष्टतम किया जाता है जैसे- एन्जाइम की सान्द्रता तथा संगठन की सान्द्रता, एन्जाइम रखने की अवधि एवं उत्तक का प्रकार।



चित्र 3- पृथक किए गए ताजा प्रोटोप्लास्ट

एन्जाइम संगठन : पादप कोशिका भित्ति व मध्यपटलिका को विघटित करने के लिए उचित मात्रा मे पेक्टिन व सेल्यूलोज का सम्मिश्रण काम में लिया जाता है । निम्न एन्जाइम बाजार में उपलब्ध है -

- मेसरोजाइम (Macerozyme) - 10 (पेक्टिन विघटन के लिए)
- सेल्यूलेज (Cellulase) ओनोजुका - 10 (सेल्यूलोज विघटन के लिए)

- हेमीसेल्यूलेज (Hemicellulase) - (हेमीसेल्यूलोज विघटन के लिए)
- पेक्टीनेज (Pectinase) - (पेक्टिन के विघटन के लिए)
- डाइजलेज - (सेल्यूलेज तथा इसी तरह के एन्जाइमों का मिश्रण)

उपरोक्त एन्जाइमों का 0.5-2% सान्द्रता वाले मिश्रण से 4.7- 6.0 pH एवं 25°-30°C तापमान पर तथा इन्हें सॉरबिटाल या मिनिटॉल (10-15%) के विलयन में तैयार किया जाता है जो प्रोटोप्लास्टों को फटने से रोकता है । साथ ही थोड़ी मात्रा में (7mM) कैल्शियम क्लोराइड मिलाया जाता है जो प्लाज्मा झिल्ली का स्थायित्व बढ़ाता है । इस विलयन को झिल्ली युक्त फिल्टर से सिरिज की सहायता से निर्जमित किया जाता है एवं कैलस या पत्ती के भाग इसमें छोड़ दिये जाते हैं । उपरोक्त पेट्रीप्लेट को 4-12 घण्टे के लिए उत्केन्द्र हल्लित्र (10-20 चाल/मिनिट) व 25° - 30°C पर रखते है । इससे उत्तक एन्जाइम के संपर्क में आता रहता है तथा ज्यादा संख्या में प्रोटोप्लास्ट प्राप्त होते हैं ।

(iii) प्रोटोप्लास्ट का शुद्धिकरण (Purification of Protoplast)

प्रोटोप्लास्ट युक्त विलयन को लोहे या नॉयलोन की जाली 50 से 100 माइक्रोमि. से छानकर क्षतिग्रस्त कोशिकाएँ, उत्तक एवं कोशिका भित्तियों के टुकड़ों को अलग कर सेन्ट्रीप्यूज द्वारा अपकेन्द्रण किया जाता है जिससे ट्यूब का प्रोटोप्लास्ट नीचे बैठ जाता है जबकि कचरा उपर रह जाता है. जिसे पिपेट से हटा दिया जाता है । ट्यूब में एन्जाइम रहित सॉरबिटॉल डालकर वापस अपकेन्द्रण किया जाता है । इस प्रकिया को दो-तीन बार करने पर प्रोटोप्लास्ट साफ हो जाता है । इसके अतिरिक्त 20 प्रतिशत सूक्रोज के विलयन में भी प्रोटोप्लास्ट उपर तैरते है तथा कचरा नीचे बैठ जाता है । साफ किये प्रोटोप्लास्ट को हीमोसाइटोमीटर द्वारा गणना करके उपयुक्त मात्रा में पोष पदार्थ मिलाकर तनु किया जाता है ।

8.2.3 विलगन को प्रभावित करने वाले कारक (Affecting factors)

प्रोटोप्लास्ट विलगन निम्न कारकों द्वारा प्रभावित होता है-

- वृद्ध तथा अस्वस्थ उत्तक
- अनिर्जमीकृत उत्तक या कोशिकाएँ
- एन्जाइम सान्द्रता (कैलस कल्चर की कोशिकाओं में कोशिका भित्ति मीजोफिल कोशिकाओं की तुलना में अधिक मोटी होती है इसलिए इसमें अधिक एन्जाइम चाहिए होता है) ।
- वातावरणीय एवं जीन प्ररूपी कारक (ये दोनो कारक कोशिका भित्ति तथा कोशिकाओं की आपस में जुड़ाव क्षमता को आपस में प्रभावित करते हैं । अत: ये सभी कारक परोक्ष रूप से प्रोटोप्लास्ट के विलगन को भी प्रभावित करते हैं ।
- पादप या कल्चर की कार्यिकीय एवं वृद्धि अवस्था (यह प्रोटोप्लास्ट के उत्पादन, जीवन क्षमता तथा पुर्नजनन की क्षमता को अत्यधिक प्रभावित करते है ।

8.2.4 प्रोटोप्लास्ट संवर्धन (Protoplast Culture)

विलगित प्रोटोप्लास्ट को धोने के पश्चात् उपयुक्त पोषपदार्थ पर विभिन्न विधियों सें संवर्धित किया जाता है । प्रोटोप्लास्ट संवर्धन को निम्न बिन्दुओं के अन्तर्गत वर्णन किया जा सकता है-

(a) परासरणीय दाब (Osmotic Pressure) : विलगित प्रोटोप्लास्ट के संवर्धन के दौरान उनमें मजबूत कोशिका भित्ति का निर्माण नहीं होता हैं तो वे अन्त: परासरण के कारण फट सकते है । पोष पदार्थ में परासरणी एन्जाइम सान्द्रता तथा प्रोटोप्लास्ट को साफ करने हेतु लिए जाने वाले विलयन की मात्रा एक सामान ही रखी जाती है । लम्बी अवधि तक प्रोटोप्लास्ट को उच्च परासरणीय सान्द्रता पर रखने से वे भूरे तथा निष्क्रिय हो सकते है तथा वृद्धि नही करते हैं । कोशिका भित्ति के निर्माण के साथ-2 विलयन को भूरे करके परासरणी दाब को कम किया जाता है ।

(b) पोष पदार्थ (Culture Media) : साधारणता प्रोटोप्लास्ट संवर्धन में उसी जाति की कोशिकाओं के लिये उपयोग में लिया जाने वाला पोष पदार्थ ही काम में लिया जाता है । जैसे -

- FS माध्यम (Arearson et.al,1973)
- Nagata व Takeda माध्यम (1971)
- V47 (Binding,1974)
- प्र 41011,
- MS माध्यम

पोष पदार्थ में अमोनियम की उपस्थिति आलू, कई फलदार पौधों तथा कुछ कम्पोजिटी कुल के पौधों के प्रोटोप्लास्ट संवर्धन में विषैली साबित हुई है ।

(c) वृद्धि नियामक (Growth Regulators) : प्रोटोप्लास्ट संवर्धन से कोशिका विभाजन व वृद्धि प्रेरित करने के लिए एक ऑक्सिन व एक साइटोकाइनिन का उचित सम्मिश्रण काम में लिया जाता है । नीबूं तथा पिटूनिया के अबुर्द्व को प्रोटोप्लास्ट संवर्धन वृद्धि नियामक रहित पोष पदार्थ में भी संभव है ।

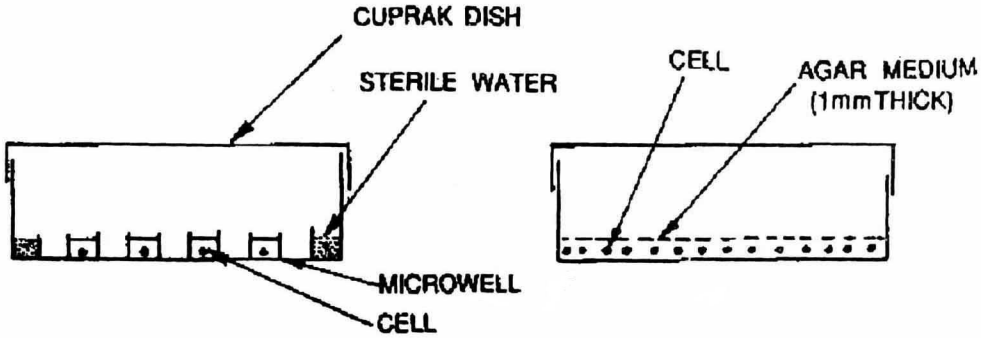
(d) वातावरणीय कारक (Environmental factors)

- प्रकाशीय तीव्रता - मन्द प्रकाश या अंन्धेरे में संवर्धन किया जा सकता है । तीव्र प्रकाश प्रोटोप्लास्ट वृद्धि को बाधित करता है ।
- तापमान-24°C से 26°C पर उचित प्रोटोप्लास्ट संवर्धन लेकिन गेहूँ चावल, एवं बाजरा के प्रोटोप्लास्ट को 5 मिनट के लिए 45° से उपचारित करने पर विभाजन प्रकिया तेज हो जाती है ।
- कम वोल्ट की बिजली की तरंग देने से ट्राइफोलियम में प्रोटोप्लास्ट में विभाजन प्रेरित हो जाता है ।
- pH - उचित pH = 5.5-5.8

(e) घनत्व (Density) : प्रोटोप्लास्ट का सफल संवर्धन पोषपदार्थ में उनके घनत्व (प्रति मिलि. कोशिकाओं की संख्या) पर निर्भर करता है । अधिकतर प्रोटोप्लास्ट 0.5 - 2 x 10^5 प्रति मिलि. के घनत्व पर संवर्धन किये जा सकते है । प्रोटोप्लास्ट का घनत्व व परासरणी दाब प्रोटोप्लास्ट में वृद्धि तथा कोशिका विभाजन के साथ धीरे-धीरे कम किया जाता है ।

(f) संवर्धन की विधियाँ : प्रोटोप्लास्ट संवर्धन के लिए निम्न विधियों का प्रयोग किया जाता है-

(i) बर्गमेन की प्लेटन विधि (Bergman's Plating Method) : इस विधि में प्रोटोप्लास्ट को समान आयतन के 1 प्रतिशत एगार तथा 35° से. तापमान वाले पिघले पोष पदार्थ में मिलाकर जल्दी से पेट्री प्लेट में 1 मिमि. मोटी परत में फैला देते है । कोशिकायें पोष पदार्थ में फँसी रहती है तथा कॉलोनी बन जाने पर इसे अलग कर संवर्धित करते है ।



चित्र 4 - (a) बर्गमेन प्लेटन तकनीक (b) सूक्ष्म बूंद तकनीक

(ii) सूक्ष्म बूंद विधि (Micro Drop Method) : इसमें विशेष प्रकार के पात्रों (क्यूप्रेक पात्र) में प्रोटोप्लास्टों को 50-100 की सूक्ष्म बूंदों में बांट कर रखते है (प्रत्येक सूक्ष्म बूंद एक सूक्ष्म रूप में रहते हैं।

(iii) प्रोटोप्लास्टों को द्रव पोष पदार्थ में निलम्बित करके पेट्री प्लेट में एक पतली परत में फैला देते हैं जिससे प्रोटोप्लास्टों को पर्याप्त वायु प्राप्त हो सके । इस विधि में प्रोटोप्लास्ट स्थिर नहीं रहते है ।

(iv) पादप प्रोटोप्लास्ट का निश्चलन (Immobilization of Plant Protoplast) : कुछ पादप जातियां जैसे- जौ, सूरजमुखी तथा मक्का के प्रोटोप्लास्ट में कोशिका विभाजन करने के लिए निश्चलन करना आवश्यक है । यह समझा जाता है कि जेलीय परत नाजुक प्रोटोप्लास्ट को यान्त्रिक सहायता देती है तथा झिल्ली के वसा का परॉक्सिकरण रोकती है । इस तकनीक से कठिन प्रजातियों के प्रोटोप्लास्ट संवर्धन को सुधारा जा सकता है ।

(v) पोषक उत्तक संवर्धन : पोषक उत्तक संवर्धन का उपयोग एकल कोशिकाओं की वृद्धि में सहायक सिद्ध हुआ है । पोषक ऊतक एक उचित तुलनात्मक पोषण की आपूर्ति करते हैं जिससे प्रोटोप्लास्ट कोशिकाओं की वृद्धि संभव हो जाती है । जैसे गेहूँ फेक्टूका, मक्का तथा ब्रेसिका ।

8.2.5 प्रोटोप्लास्ट से पुनर्जनन (Regeneration from Protoplast)

प्रोटोप्लास्ट कोशिका भित्ति पुनर्जनित करते हैं तथा कोशिका विभाजन द्वारा सूक्ष्म कैलस बनाते हैं । कभी कभी प्रोटोप्लास्ट की एकल कोशिकाओं से सीधे आ बन जाते है जैसे मेडिकागो, ब्रेसिका जन्सिया तथा नीबूं । एकल विलगन प्रोटोप्लास्ट या संगलन का उपयोग पुर्नजनन के लिए किया जा सकता है । इन्हें जेलयुक्त या जेलरहित (तरल) पोष पदार्थ में डाल देते है । पेट्रीप्लेट को पैराफिल्म से बन्द करके 20° से. तथा 2300 लक्स प्रकाश में उल्टा रख दिया जाता है । पृथक किये गये प्रोटोप्लास्ट अपने चारों ओर कोशिका भित्ति का निर्माण करते हैं । इसे केल्कोफलोरो व्हाईट नामक फलूरीसेंट अभिरंजक की सहायता से देखा जा सकता है । कोशिका बनने के बाद विभाजन से कैलस का निर्माण होता है तथा प्लेटन द्वारा कैलस प्राप्त कर उससे पुनर्जनन द्वारा पूर्ण पादपक प्राप्त किया जा सकता है । उदाहरण -

सारणी 1 - प्रोटोप्लास्ट से पुनर्जनित पादप जातियां

जातियाँ	**प्रोटोप्लास्ट स्त्रोत**	**पुनर्जनन**
धान्य		
ओराइजा सैटाइवा किस्म जापोनिका	भ्रूणजननिक कोशिका निलम्बन	पादप
जिया मेज	भ्रूणजननिक कोशिका निलम्बन	बन्ध्य पादप
ट्रिटीकम एस्टीवम	भ्रूणजननिक कोशिका निलम्बन	पादप
सब्जियां		
ब्रेसिका ओलेरेसिया किस्म इटालिका कैप्सिकम एनुअम	अधोबीजपत्र पर्ण	पादप जननक्षम पादप
कंद व मूल फसलें		
आइपोमिया बटाटा	पर्णवृन्त + स्तम्भ	पादप
बीटा वल्गेरिस	पर्ण	पादप
तिलहनी फसलें		
हेलिऐन्थेस ऐनुअस	अधोबीजपत्र	जननक्षम पादप
दलहनी फसल		
ग्लाइसीन मैक्स	अपरिपक्व बीजपत्र	जननक्षम पादप
अलंकारी पादप		
क्राइसेन्थिमम	पर्ण	पादप

रोजा	भ्रूण जननिक कोशिका निलम्बन	पादप

8.2.6 पादप शोध में अनुप्रयोग (Application in Plant Research)

प्रोटोप्लास्ट विलगन से लाखों कोशिकाओं की प्राप्ति होती है तथा इनसे कई प्रकार के अध्ययन किये जा सकते है-

- स्वत: प्रवर्तित या उत्प्रेरक से विकसित एकल कोशिकाओं से उत्परिवर्तनों का आसानी से पृथक्करण किया जा सकता है ।
- एकल कोशिकाओं के क्लोनो की प्राप्ति ।
- कायिक कोशिका संगलन केवल प्रोटोप्लास्टों द्वारा ही प्राप्त किया जाता है ।
- DNA या कोशिकागों उदाहरण द्वारा जीन स्थानान्तरण ।
- नये सिरे से कोशिका भित्ति के संश्लेषण का अध्ययन ।
- कोशिका झिल्ली की संरचना निर्माण तथा कार्य का अध्ययन ।
- प्रोटोप्लास्ट से कोशिकाओं का पृथक्करण भी आसानी से किया जा सकता है ।

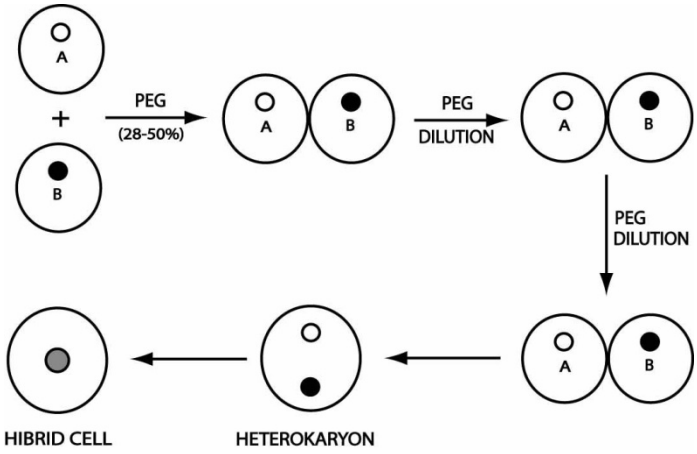
8.3 कायिक संकरण (Somatic Hybridization)

दो भिन्न जातियों/किस्मों के प्रोटोप्लास्टों के संगलन (fusion) से संकर पौधों की प्राप्ति को कायिक संकरण कहते हैं तथा ऐसे संकर पौधे को कायिक संकर कहा जाता है । निम्न बिन्दुओं के अंतर्गत इसका अध्ययन किया गया है-

3.2.1 प्रोटोप्लास्ट संगलन (Protoplast fusion)

प्रोटोप्लास्ट संगलन के लिए निम्न विधियों का प्रयोग किया जाता है -

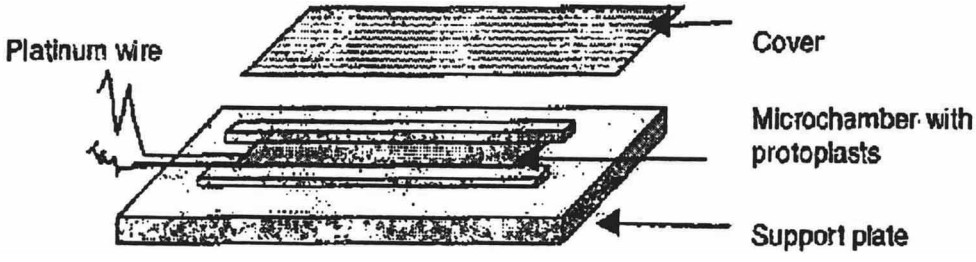
(i) पोलीइथिलीन ग्लाइकॉल (Polyethylene glycol, PEG) : काओ तथा मिचायलुक (1974) द्वारा PEG को खोला गया । प्रोटोप्लास्ट मिश्रण को 28-50 प्रतिशत PEG से 15-30 मिनट तक उपचारित करने के बाद उपयुक्त पोष पदार्थों से प्रोटोप्लास्टों को धोकर PEG को हटा दिया जाता है । पोष पदार्थ में उच्च Ca^2 + (50 mo1 1^{-1}) तथा pH क्षारीय (9-10) होने से संगलन की आवृति बढ़ जाती है । PEG अणु सीधे या Ca^{2+} के माध्यम से प्रोटोप्लास्टों की प्लाज्मा झिल्लियों से आबद्ध होकर प्रोटोप्लास्टों को एक-दूसरे के पास लाते है । धुलाई के समय PEG अणु के हटने से प्लाज्मा झिल्लियों के संगठन में उत्पन्न विक्षोभ (disturbance) से आस पास स्थित प्रोटोप्लास्टों का संगलन होता है । यह विधि अधिक सफल व सबसे अधिक उपयोग में ली जाती है ।



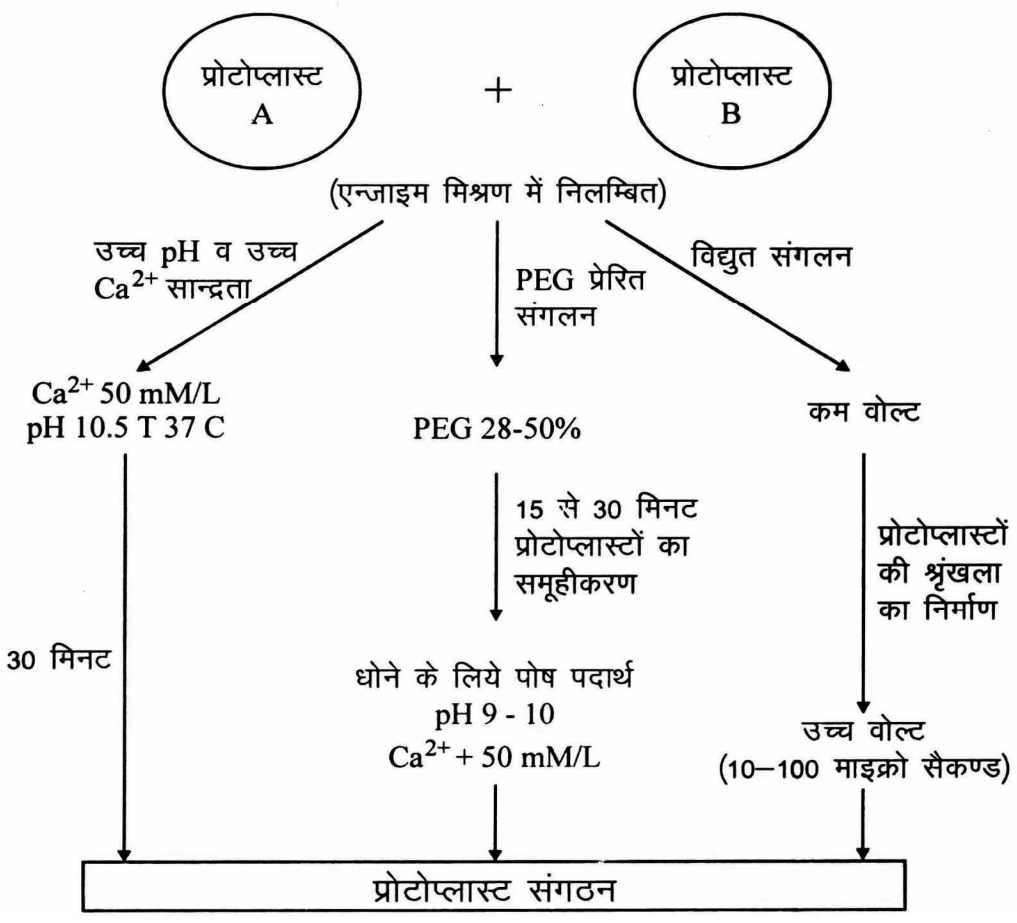
चित्र 5 : PEG द्वारा प्रोटोप्लास्ट संलगन

(ii) उच्च pH व Ca^2 सान्द्रता : प्रोटोप्लास्ट मिश्रण को उच्च pH (10-5) एवं उच्च Ca^2 सान्द्रता (50 mM/L) 37°C पर 30 मिनिट तक रखते है ।

(iii) विधुतीय संगलन तकनीक (Etectrofusion Technique) : जिमरमान (1982) की इस विधि में प्रोटोप्लास्ट को दो विधुत इलेक्ट्रोड के बीच रखकर असमान प्रत्यावर्ती (Alternating) विधुत प्रवाहित की जाती है । जिससे वे खिंचकर पास-पास आ जाते है फिर एक उच्च विधुत क्षेत्र (500-300 वॉल्ट प्रति सेमी.) का एक क्षणिक (10-100 माइक्रो सैकण्ड) स्पंद (Pulse) संगलन करा देता है। यह पूरी प्रकिया सूक्षमदर्शी के नीचे एक विशिष्ट यंत्र इलेक्ट्रोपोरेटर (Electroporator) की सहायता से की जाती है ।



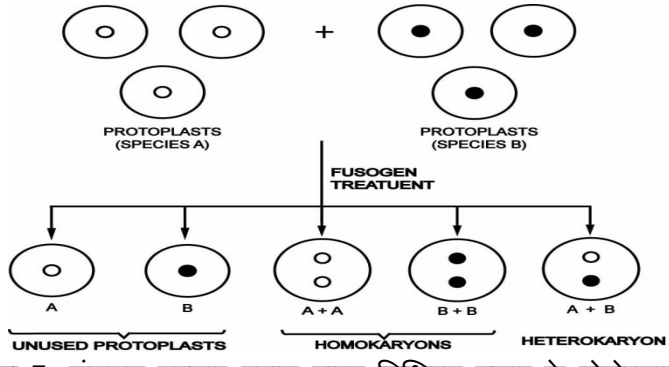
चित्र 6 - प्रोटोप्लास्ट संगलन का जीमरमान का उपकरण



8.3.2 संकर कोशिकाओं का वरण (Selection)

प्रोटोप्लास्ट संगलन के पश्चात् तीन प्रकार के प्रोटोप्लास्ट उपस्थित रहते हैं -

- असंगलित प्रोटोप्लास्ट (Unfused)
- समकेन्द्रक प्रोटोप्लास्ट (homokaryon) : एक ही जाति या विभेद के दो या अधिक प्रोटोप्लास्टों के संगलन से उत्पन्न प्रोटोप्लास्ट ।
- विषमकेन्द्रक प्रोटोप्लास्ट (Haterokaryon) : दो भिन्न जातियों विभेदों के प्रोटोप्लास्टों के संगलन से प्राप्त प्रोटोप्लास्ट ।



चित्र 7- संगलन उपचार द्वारा प्राप्त विभिन्न प्रकार के प्रोटोप्लास्ट

कायिक संकरण के लिए केवल विषमकेन्द्रक प्रोटोप्लास्ट ही महत्वपूर्ण होते है तथा ये केवल 0.5 - 10 प्रतिशत तक होते है । निम्न युक्तियों द्वारा वरण किया जा सकता है -

(i) जब दो जातियों के प्रोटोप्लास्ट अलग-2 रंग के हो, तो संकर दीप्ति वाले अभिरंजकों द्वारा पहचाना जा सकता है । यह विधि काफी कठिन, समय लेने वाली एवं जटिल है ।

(ii) पूरकीकरण (Complementation) - इस युक्ति में ऐसी जातियों के प्रोटोप्लास्टों का संगलन करते है । जिनमें से एक जाति में कोई एक कमी तथा दूसरी जाति में एक अन्य कमी होती है और इस दोनों की संकर कोशिकाओं में ये दोनों कमियाँ छिप जाती है, यह दशा पूरकीकरण कहलाती है । यह कमी पोषपदार्थ के किसी अवयव, ऐंटिबायोटिक, तापमान आदि से संवेदनशील हो सकती है ।

(iii) इस युक्ति में सभी प्रोटोप्लास्टों को बिना किसी वरण के कल्चर करते है । इससे प्राप्त कॉलोनियों या संकर कोशिकाओं / पौधों की पहचान कैलस / पादप आकारिकी, क्रामोसोम संख्या, प्रोटीन / एन्जाइम आदि के इलेक्ट्रोफोरेसिस से प्राप्त पैटर्न के आधार पर करते हैं । इसकी पहचान के लिए जाति -विशिष्ट डी.एन.ए. अन्वेषियों का भी उपयोग किया जा सकता है ।

8.3.3 संकर पौधों का पुनर्जनन (Regeneration)

कायिक संकरों का पादप प्रजनन में उपयोग निम्न दो बातों पर निर्भर करता है-

- कायिक संकर पौधों का पुनर्जनन ।
- कायिक संकरों का कम से कम आंशिक उर्वर होना ।

कायिक संकरणों से बहुत से संकर पौधों का पुनर्जनन किया जा चुका है । कायिक संकर दो प्रकार के है -

(a) सममित कायिक संकर (Symmetric Somatic Hybrids) : ऐसे संकर जिसमें दोनों जनक जातियों के कायिक क्रोमोसोम पूरक उपस्थित होते है (पूर्ण या लगभग दशा में) ।

जैसे

- धतूरा इनॉक्सिया + ऐट्रोपा बेलाडोना
- सोलेनम ट्यूबरोसम + लाइकोपर्सिकॉम एस्कुलेंटम

(b) असममित (Asymmetric) संकर : इनमें एक जाति का पूर्ण कायिक क्रोमोसोम पूरक तथा दूसरी जाति के केवल एक या कुछ क्रोमोसोम उपस्थित होते है ।

जैसे

- डॉकस केरोटा + एगोपोडियम पोडेग्रेरिया
- निकोटियाना टेबेकम + डॉकस केरोटा

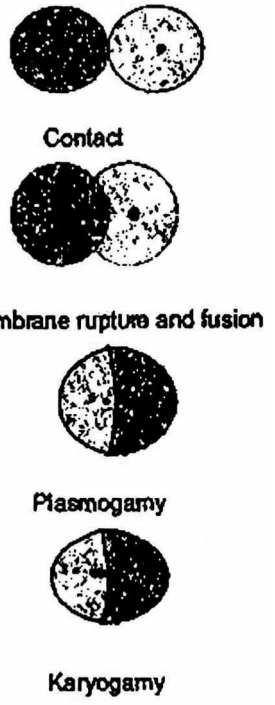
8.3.4 कायिक संकरण के अनुप्रयोग:

इस तकनीक के निम्न अनुप्रयोग है

(a) कायिक संकर तथा सायब्रिड (Cybrid) उत्पादन - प्रोटोप्लास्ट संगलन द्वारा कई अन्तर एवं अन्त: जातीय संकर सोलेनेसी कुल के पौधों में बनाये गये जैसे- धतूरा, पिटूनिया तथा तम्बाकू इत्यादि में । इस प्रकार कई सममित तथा असममित कायिक संकर बनाये गये जिनका ऊपर वर्णन किया जा चुका है ।

सायब्रिड या कोशिकाद्रव्यी संकर (Cybrids) : इस संकर में केन्द्रक किसी एक जाति का लेकिन कोशिकाद्रव्य दोनों प्रजातियों का होता है । प्रोटोप्लास्ट संगलन द्वारा इनकी उत्पत्ति निम्न कारणों से कम आवृति में होती है ।

- एक जाति के सामान्य प्रोटोप्लास्ट का दूसरी जाति के केन्द्रक रहित प्रोटोप्लास्ट (Cytoplast) से संगलन ।
- संकर कोशिका से एक जाति के गुणसूत्रों का क्रमश: लोप ।
- विषम केन्द्रकी कोशिका से एक जाति का केन्द्रक को लोप ।



चित्र 8 - कायिक संकरण द्वारा सायब्रिड का निर्माण

साइब्रिड निम्न प्रकार से बनायी जा सकती है-

- एक जाति में प्रोटोप्लास्ट संगलन से पूर्व एक्स-किरणन जिसमें इसके कोमोसोमों का संकर कोशिका में लोप हो जाए ।
- एक जाति के साइटोप्लास्टों का उत्पादन कर उनका दूसरी जाति के सामान्य प्रोटोप्लास्टों से संगलन
- कोशिकाओं का उद्ग्रहण (DNA Uptake) : दोज तथा सहयोगियों (1972-73) ने फेज-लेम्बडा से टमाटर की अगुणित कोशिका (प्रोटोप्लास्ट) को रूपान्तरित किया । जीन स्थानान्तरण तकनीक द्वारा बाहरी वांछित डी.एन.ए को किसी जाति के प्रोटोप्लास्ट या

कायिक संकर में स्थानान्तरित कर पराजीनी पादप विकसित किये गये है । विभिन्न रिर्पोटर जीनों के उपयोग ने रूपान्तरित कोशिकाओं की पहचान को सरल बना दिया है तथा पराजीनी के समाकलन का ज्ञान तुरन्त हो जाता है ।

सारणी 2 - प्रोटोप्लास्ट द्वारा डी.एन.ए उद्ग्रहण से तैयार पराजीनी पादप

जाति	प्रोमोटर/जीन	विधि	पुनर्जनन
ऑराइजा सेटाइवा	1. मक्का की एल्कोहॉल डिहाइड्रोजिनेज प्रोमोटर तथा प्रथम इन्ट्रोन/बीटा-ग्लूकोइनिडेज	PEG	पादप
	2. काउली फलोवर विषाणु की 35S प्रोमोटर/हाम्रोमाइसिन फास्कोट्रान्सफेरेज जीन (hph)	इलेक्ट्रोपोरेशन	जननक्षम पादप
जीयामेज	मक्का की एल्कोहॉल डिहाइड्रोजिनेज प्रोमोटर तथा प्रथम इन्ट्रोन/बीटा-ग्लूकोइनिडेज नियोमाइसिन फास्फोट्रान्सफरेज	इलेक्ट्रोपोरेशन	बन्ध्य पादप
सोलनम ट्यूबरोसम	नियोमाइसिन फास्फोट्रान्सफरेज	PEG	पादप
लेक्टूका सैटाइवा	35S प्रोमोटर/नियो.	इलेक्ट्रोपोरेशन	जननक्षम पादप

(a) कायिक संकर का कोशिका विभाजन एवं जीन अभिव्यक्ति के नियन्त्रण का अध्ययन किया जाता है ।

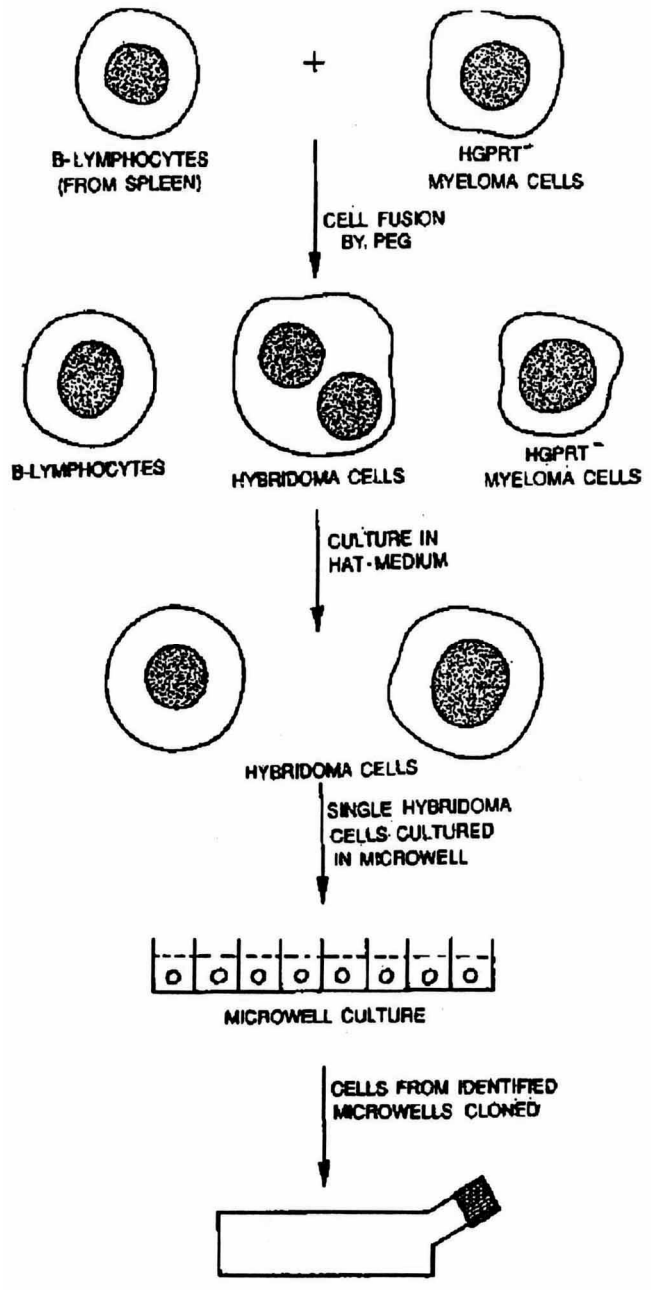
(b) दुर्दम रूपान्तरण (malignant transformation) का अध्ययन ।

(c) वाइरसों के गुणन (multiplication) में ।

(d) क्रोमोसोम चित्रण (Chromosomal mapping) में ।

(e) मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी का उत्पादन - हाइब्रिडोमा तकनीक द्वारा एक बीटा - लिम्फोसाइट एवं एक माइलोमा कोशिका के संगलन से प्राप्त संकर कोशिका को हाइब्रिडोमा (Hybridoma) कहते है । इस तकनीक का विकास 1975 में जी. कोहलर एवं सी. मिल्स्टीन ने किया ।

हाइब्रिडोमा उत्पादन के लिए बीटा - लिम्फोसाइट किसी प्रतिरक्षित जन्तु जैसे - मूषक, खरगोश आदि की तिल्ली से प्राप्त करते है तथा यह एक ही प्रकार की प्रतिरक्षी का उत्पादन करती है । मॉइलोमा प्रतिरक्षा उत्पादन तन्त्र की अर्बुदी कोशिकाओं को कहते है । तथा यह प्रतिरक्षी (antibody) उत्पादित नही करती है । बीटा - लिम्फोसाइट व मॉइलोमा से प्राप्त हाइब्रिडोमा क्लोनो को पात्रे कल्चर करके या मूषकों की पेरीटोनियमी गुहा (peritoneal cavity) में प्रतिरोपित करके मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षियों का उत्पादन करते हैं ।



चित्र 9- हाइब्रिडोमा क्लोनों के उत्पादन की पद्यति का सरल रेखाचित्र

8.4 परागकोष संवर्धन (Anther Culture)

उपयुक्त पोष पदार्थ पर परागकोषों को संवर्धित करके अगुणित पौधों की प्राप्ति को परागकोष संवर्धन कहते है ।

8.4.1 परिचय (Introduction)

अगुणित पौधों में गुणसूत्रों का एक समूह होता है तथा ये पादप उत्परिवर्तन तथा समयुग्मक पौधे तैयार करने में बहुत महत्व रखते हैं । सर्वप्रथम शिप्रा गुहा तथा सतीश माहेश्वरी ने 1964

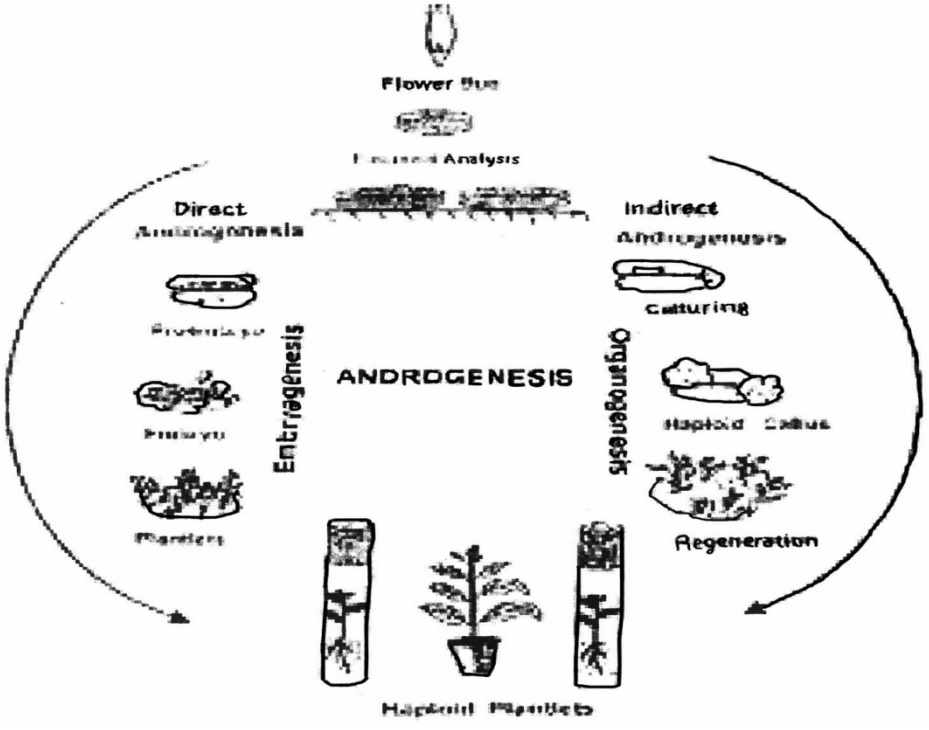
में पहली बार धतूरा इनॉक्सिया के परागकोषों से तथा 1966 में परागकणों से अगुणित पौधों का भ्रूणजनन द्वारा विकास करके इस क्षेत्र में क्रान्ति ला दी । बाद में बुर्जिन तथा निश्च ने फ्रांस में तम्बाकू के पूर्ण अगुणित पादप तैयार किये । अब तक 25 कुलों की कुल 200 से अधिक जातियों के परागकोष कल्चर से अगुणित पौधों की प्राप्ति हो चुकी है, इसमें सोलेनेसी कुल के पौधे सर्वाधिक है ।

8.4.2 क्रियाविधि (Procedure)

अगुणित पादपक प्राप्त करने के लिए एक केन्द्रकीय लघुबीजाणु युक्त परागकोष युक्त कलियों को लेकर निर्जमित किया जाता है । परागकोषों के बाहर स्थित बाह्यदलपुंज, दलपुंज तथा पुतन्तु सभी को सावधानीपूर्वक हटा देना चाहिए । पतली ब्लेड द्वारा परागकोष को अनुदैर्ध्य काट लगाकर ठोस या तरल पोष पदार्थ पर स्थानान्तरित कर उन्हें 24 - 27°C तापक्रम पर 2000 लक्स प्रकाश पर 12 से 16 घंटे प्रतिदिन रखा जाता है । विभिन्न प्रजातियों में 1-8 सप्ताह में परागकोष से पादपक बाहर दिखाई देते हैं । इन पादपकों को साफ करके सीधा गमलों में लगाया जा सकता है तथा इस प्रकार परागकोषों से एक साथ कई अगुणित पादप तैयार कर समयुग्मी लाइनें विकसित की जा सकती है ।

8.4.3 पुंजनन (Androgenesis)

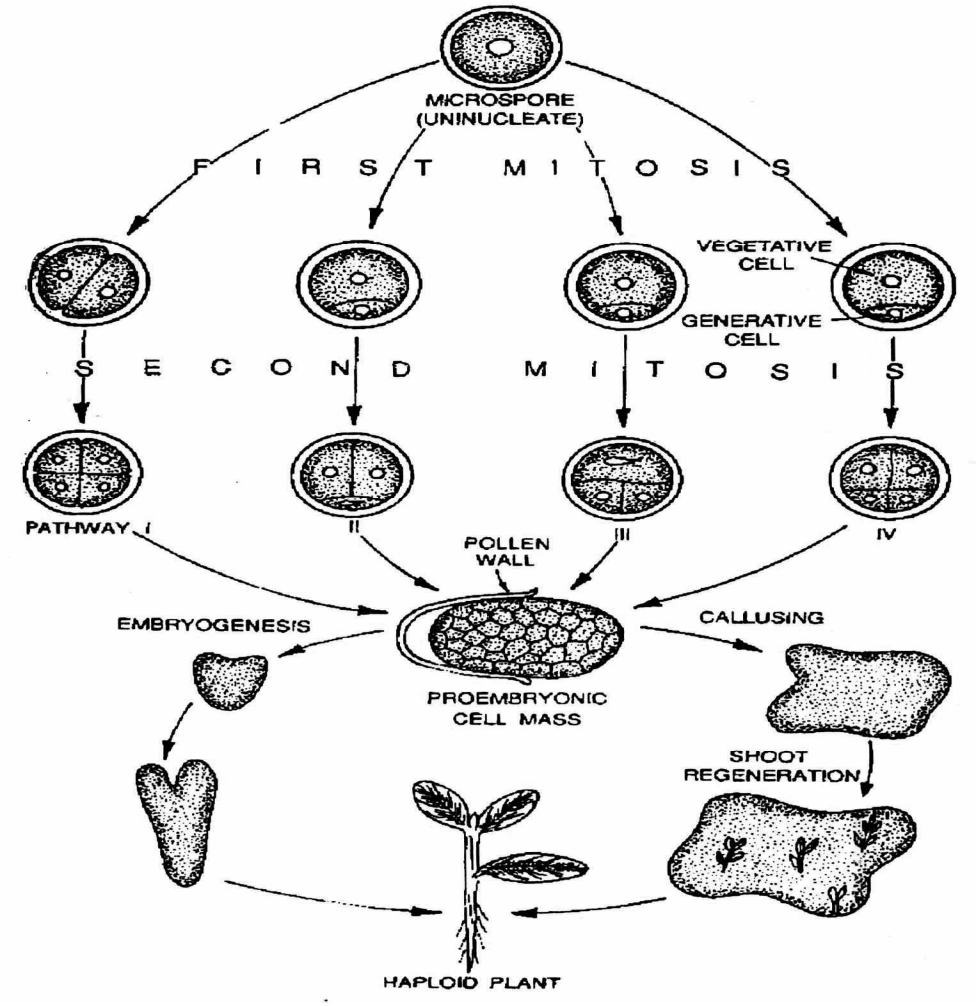
पुंजनन द्वारा (भ्रूणजनन) या परोक्ष (कैलस) द्वारा अगुणित पादप तैयार किये जा सकते है । कैलस द्वारा उत्पन्न अगुणित पौधों में विविधता उत्पन्न हो सकती है ।



चित्र-10 परागकोष संवर्धन तथा पुंजनन की क्रियाविधि

परागकणों में कोशिका विभाजन से परिवर्धन पथ निम्न प्रकार के हो सकते हैं (चित्र-11) -

- **प्रथम पथ (Pathway I) :** एक केन्द्रकी परागकणों में सममित (symmetrical) विभाजन द्वारा दो समान कोशिकाऐं बनती हैं तथा दोनों ही आगे विभाजित होती है । उदाहरण - धतूरा इनॉक्सिया ।
- **द्वितीय पथ (Pathway II) :** एक केन्द्रक की परागकणों में असममित (asymmetrical) विभाजन द्वारा एक बड़ी व एक छोटी कोशिका का निर्माण, जिसमें छोटी जनन कोशिका का अपहासन व बडी कायिक कोशिका से भ्रूण/कैलस बनता है । उदाहरण - तम्बाकू जौ, गेहूँ आदि ।
- **तृतीय पथ (Pathway III) :** परागकणों में विभाजन असममित तथा भ्रूण/कैलस का परिवर्धन केवल जनन कोशिका होता है । उदाहरण - हायोसाएमस नाइजर ।
- **चतुर्थ पथ (Pathway IV) :** परागकणों में विभाजन असममित लेकिन भ्रूण/कैलस का निर्माण दोनों कोशिकाओं से होता है उदाहरण - धतूरा इनॉक्सिया ।



चित्र 11 - परगकणों में कोशिका विभाजन के विविध परिवर्धन पथ

कोशिका विभाजन से परागकोषों की बाह्य चोल फट जाती है तथा इससे भ्रूण/कैलस बनता है । आ पुनर्जनन द्वारा पादपक में परिवर्धित हो जाते हैं ।

8.4.4 पोष पदार्थ (Culture Media)

साधारणतया MS - माध्यम, B-5 माध्यम आदि का उपयोग किया जाता है । धान्य फसलों के लिए विशिष्ट पोष पदार्थ (N-6, आलू-2) विकसित किए गए है ।

8.4.5 वृद्धि नियामक (Growth Regulators)

परागकोष संवर्धन में ऑक्सीन, साइटोकाइटिन तथा जिबरेलिक अम्ल (GA_2) की निम्न सान्द्रता का भ्रूणजनन पर लाभकारी प्रभाव होता है ।

8.4.6 पराग परिवर्धन की अवस्था (Stage of Pollen Development)

संवर्धन के लिए परागकणों की इष्टतम अवस्था जाति पर निर्भर करती है । जैसे -

- अधिकांश जातियों में द्विकेन्द्रकी अवस्था सर्वोतम
- धान्यों में आरम्भिक से मध्य एक केन्द्रकी अवस्था
- टमाटर, ऐरोबिडाप्सिस आदि में अर्द्वसूत्री प्रथम अवस्था
- ब्रैसिका में एक केन्द्रकी पराग से त्रिकेन्द्रकी पराग तक की अवस्था

8.4.7 संवर्धन वातावरण (Culture Environment)

तम्बाकू में 25°C व धतूरा में 20°C से कम तापमान पर भ्रूणजनन नहीं होता है । साधारणतया 12 -18 घंटे प्रकाश (5000 लक्स) एवं 12-6 घण्टे अन्धकार का चक्र रखते हैं ।

8.4.8 अगुणित संवर्धन स्थिरता (Stability of Haploid Cultures)

अगुणित संवर्धन स्थिरता के लिए विशिष्ट रसायन जैसे - पैराफलूरोफिनाईल ऐलानिन का उपयोग किया जाता है तथा लम्बे समय तक अगुणित व समयुम्मी लाइनों का अनुरक्षण किया जा सकता है ।

8.4.9 पूर्व उपचार (Pretreatment)

पुष्प कलिकाओं को पूर्व उपचार का तापमान व अवधि पादप जाति, जीन प्ररूप एवं पराग परिवर्धन की अवस्था पर निर्भर होता है ।

- तम्बाकू में 3 - 5°C पर 2 दिन या 7 - 8°C पर 12 दिन पूर्व उपचार सबसे उत्तम होता है ।
- धान्यों में 4 - 10°C पर 3 - 28 दिनों तक पूर्व उपचार ।
- ब्रैसिका में उच्च तापमान उपचार 35°C 24 घंटे तक इष्टतम होता है ।

8.4.10 अगुणितों के अनुप्रयोग (Application of Haploids)

अगुणित कल्चर के निम्न उपयोग दर्शाये गये है-

- अगुणित पादपों का उत्पादन करना ।
- विशुद्ध प्रजनित द्विगुणित लाइनों का विकास करना ।
- रोग-रोधी जेरानियम के विषाणु -मुक्त पादप तैयार करना ।
- गामा-किरणों से उपचारित अगुणित उत्परिवर्ती से द्विगुणन द्वारा स्थायी द्विगुणित पौधे तैयार करना ।
- बीज-रहित तथा कायिक प्रवर्धित, जननक्षम द्विगुणित व चतुष्कगुणित फसलों का विकास करना । जैसे-आलू ।
- उन्नत व लम्बी अवधि की फसलें तैयार करना । जैसे- चाय, कॉफी, रबर आदि ।
- काष्ठीय पौधों की उन्नत किस्में विकसित करना । जैसे-एल्बिजिया, पोपुलस, कैमेलिया हिबीया तथा अल्मस ।

8.5 सारांश (Summary)

पादप कोशिकाओं के चारों और उपस्थित कोशिका भिति को यान्त्रिक व एन्जाइमी विधि द्वारा अलग कर प्रोटोप्लास्ट प्राप्त किये जाते हैं । प्रोटोप्लास्ट संवर्धन करके कई अन्तर व अन्त: जातीय या वंशीय कायिक संकरों का उत्पादन कर उत्तम व अधिक उन्नत किस्मों को विकसित किया जाता है । प्रोटोप्लास्ट से पुनर्जनन द्वारा पूर्ण पादप प्राप्त किये जाते है । जन्तु कोशिकाओं में कोशिका भिति अनुपस्थित लेकिन ये पूर्णशक्त न होने के कारण इनसे प्राप्त संकर कोशिकाऐं लम्बे समय तक जीवित नहीं रह पाती हैं । प्रोटोप्लास्ट विलगन के लिए प्रयुक्त एन्जाइमी मिश्रण में मेसरोजाइम सेल्यूलेज, हेमीसेल्यूलेज, पेक्टीनेज इत्यादि एन्जाइम उपस्थित होते है । प्रोटोप्लास्ट के शुद्धिकरण के लिए एन्जाइम रहित सॉरबिटॉल के साथ इनका अपकेन्द्रण कर साफ किये जाते हैं । प्रोटोप्लास्ट संवर्धन के दौरान कोशिका भिति के निर्माण के साथ विलयन को तनु करके परासरणी दाब नियन्त्रित किया जाता है ताकि प्रोटोप्लास्ट फट ना जाए । प्रोटोप्लास्ट को उपर्युक्त पोष पदार्थ, वातावरणीय कारक, pH, घनत्व आदि रखकर प्रोटोप्लास्ट का संवर्धन किया जाता है । प्रोटोप्लास्ट से पुनर्जनन द्वारा कई पादप जातियों का विकास किया गया है ।

प्रोटोप्लास्ट संगलन द्वारा दो भिन्न जातियों/किस्मों के संकर पौधों का निर्माण किया जाता है । ये कायिक संकर कहलाते है । प्रोटोप्लास्ट संगलन PEG, उच्च pH व Ca^{2+} सान्द्रता तथा विधुतीय संगलन द्वारा कराकर कायिक संकर उत्पन्न किये जाते हैं । विषमकेन्द्रकी प्रोटोप्लास्ट का वरण कर पुनर्जनन द्वारा कायिक संकर पौधों का विकास किया जाता है । कायिक संकरण का कायिक संकर व सायब्रिड उत्पादन, डी.एन.ए. के उद्ग्रहण तथा मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी उत्पादन के लिए किया जाता है । परागकोष को उपयुक्त पोष पदार्थ पर सवंर्धित कर अगुणित पौधों को प्राप्त किया जाता है । अगुणित पादपों को कम समय में किया जा सकता है । पुंजनन द्वारा प्रत्यक्ष (भ्रूणजनन) या परोक्ष (कैलस) द्वारा अगुणित पादप तैयार किये जा सकते है । परागकोष को उपयुक्त पोष पदार्थ, वृद्धि नियामक, पराग परिवर्धन की इष्टतम अवस्था, संवर्धन वातावरण, अगुणित संवर्धन स्थिरता आदि दशाओं में अगुणित पादप विकसित किये जाते है । अगुणित कल्चर द्वारा अगुणित उत्पादन, विशुद्ध प्रजनन लाइनों, विषाणु-मुक्त पौधे,

उत्परिवर्तन प्रजनन, कायिक प्रवर्धित फसलें, लम्बी अवधि की फसलें तथा वृक्ष प्रजनन में किया जाता है ।

8.6 शब्दावली (Glossary)

1. **प्रोटोप्लास्ट (Protoplast) :** कोशिका भित्ति रहित पृथक की गई पादप कोशिका को प्रोटोप्लास्ट (Protoplast) कहते है ।
2. **पुनर्जनन (Regeneration) :** उपयुक्त पोष पदार्थ पर ऊतक/कोशिका संवर्धन से भ्रूणजनन व अंगों का विकास, पुनर्जनन कहलाता है ।
3. **कायिक संकरण (Somatic Hybridization) :** दो भिन्न जातियों/किस्मों के प्रोटोप्लास्टों के संगलन (fusion) से संकर पौधों की प्राप्ति को कायिक संकरण कहते हैं ।
4. **समकेन्द्रक प्रोटोप्लास्ट (Homokaryon Protoplast) :** एक ही जाति या विभेद के दो या अधिक प्रोटोप्लास्टों के संगलन से उत्पन्न प्रोटोप्लास्ट समकेन्द्रक प्रोटोप्लास्ट कहते हैं ।
5. **विषम केन्द्रक प्रोटोप्लास्ट (Hetrokaryon Protoplast) :** दो भिन्न जातियों/विभेदों के प्रोटोप्लास्टों के संगलन से प्राप्त प्रोटोप्लास्ट विषमकेन्द्रक प्रोटोप्लास्ट कहते हैं ।
6. **सायब्रिड (Cybrid) :** ऐसा संकर जिसमें केन्द्रक किसी एक जाति का लेकिन कोशिकाद्रव्य दोनों प्रजातियों का हो, सायब्रिड कहलाता है ।
7. **मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी (Monoclonal Antibodiy) :** हाइब्रिडोमा तकनीक से प्राप्त संकर कोशिका (हाइब्रिडोमा) से पात्रे कल्चर द्वारा उत्पन्न प्रतिरक्षी, मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी कहलाती है ।
8. **हाइब्रिडोमा (Hybridoma) :** हाइब्रिडोमा तकनीक द्वारा एक बीटा- लिम्फोसाइट एवं एक मॉइलोमा कोशिका के संगलन से प्राप्त संकर कोशिका को हाइब्रिडोमा (Hybridoma) कहते है ।
9. **परागकोष संवर्धन (Anther Culture) :** उपयुक्त पोष पदार्थ पर परागकोषों को सवंर्धित करके अगुणित पौधों की प्राप्ति को परागकोष संवर्धन कहते है ।
10. **पुंजनन (Androgenesis) :** पुंकेसर द्वारा प्रत्यक्ष या अप्रत्यक्ष रूप से विकसित अगुणित पादप, पुंजनन कहलाता है ।

8.7 बोध प्रश्न

प्रश्न 1 रिक्त स्थानों की पूर्ति करो -

1. प्रोटोप्लास्ट विलगन में प्रयुक्त एन्जाइम मिश्रण में .....मिलाने पर प्लाज्मा झिल्ली का स्थायित्व बढ़ जाता है ।
2. प्रोटोप्लास्ट पुनर्जनन के दौरान निर्मित कोशिका भिति को..... नामक फलूरीसेंट से देखा जा सकता है ।
3. संकर कोशिका जिसमें केन्द्रक किसी एक जाति का लेकिन कोशिकाद्रव्य दोनों प्रजातियों का हो ..... कहलाता है ।

4. हाइब्रिडोमा तकनीक द्वारा..... प्रतिरक्षी उत्पन्न किये जाते है ।

5. अगुणित संवर्धन स्थिरता के लिए..... रसायन का उपयोग किया जाता है।

प्रश्न 2 बहुविकल्पी प्रश्नों के उत्तर दीजिए -

1. परागकोष संवर्धन में भ्रूणजनन के लिए निम्न हार्मोन लाभकारी होते है -
   (अ) ऑक्सीन (ब) साइटोकाइनिन (स) जिबरेलिक अम्ल (द) सभी

2. हाइब्रिडोमा तकनीक में प्रयुक्त कोशिकाओं में से प्रतिरक्षी उत्पन्न करती है -
   (अ) मॉइलोमा कोशिका (ब) बीटा- लिम्फोसाइट (स) दोनों (द) कोई नही

3. परागकोष संवर्धन से सर्वप्रथम अगुणित पादप प्राप्त किये -
   (अ) प्रो. वासिल (ब) प्रो. कुकिंग व सहयोगी
   (स) गुहा व माहेश्वरी (द) शर्मा व रेडी

4. दो भिन्न जातियों / विभेदों के प्रोटोप्लास्टों के संगलन से प्राप्त प्रोटोप्लास्ट कहलाते है-
   (अ) विषमकेन्द्रक (ब) असंगलित (स) समकेन्द्रक (द) सभी

5. PEG का प्रयोग किया जाता है
   (अ) प्रोटोप्लास्ट विलगन में । (ब) प्रोटोप्लास्ट संगलन में ।
   (स) परागकोष संवर्धन में । (द) प्रोटोप्लास्ट पुनर्जनन में ।

प्रश्न 3 निम्न प्रश्नों के संक्षिप्त उत्तर दीजिए -

1. प्रोटोप्लास्ट विलगन में कौन-कौन सी विधियाँ प्रयोग की जाती है?
   .....
   .....

2. कायिक संकरण किसे कहते है?
   .....
   .....

3. पेग का पूरा नाम क्या है तथा इसका किसमें उपयोग किया जाता है?
   .....
   .....

4. साइब्रिड किसे कहते है?
   .....
   .....

5. परागकोष संर्वधन किसे कहते है?
   .....
   .....

8.8 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Books)

1. बायोटेक्नोलॉजी - ब्रह्म देव सिंह
2. Biotechnology-Fundamentals and Applications - एस.एस. पुरोहित
3. Molecular Biology and Biotechnology - डॉ.के.जी. रामावत
4. आनुवांशिकी एवं जैवतकनीकी - जी. एल. पारिख एवं विष्णुदत्त भट्टमेवाड़ा

8.9 बोध प्रश्नों के उत्तर

प्रश्न 1 1. कैल्सियम क्लोराइड
2. केल्कोफलोर व्हाइट
3. साइब्रिड
4. मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी
5. पेराफलूरोफिनाईल एलानीन

उत्तर 2 1. द
2. ब
3. स
4. अ
5. ब

उत्तर 3 1. यांत्रिक व एन्जाइमी विधि ।
2. दो भिन्न जातियों/किस्मों के प्रोटोप्लास्टों के संगलन (fusion) से संकर पौधों की प्राप्ति को कायिक संकरण कहते है ।
3. पॉलीइथीनीन ग्लाइकॉल व प्रोटोप्लास्ट संगलन ।
4. संकर कोशिका जिसमें केन्द्रक किसी जाति का लेकिन कोशिका द्रव्य दोनों प्रजातियों का हो, सायब्रिड कहलाता है ।
5. उपयुक्त पोष पदार्थ पर परागकोषों को सवंर्धित करके अगुणित पौधों की प्राप्ति को परागकोष संवर्धन कहते है ।

8.10 अभ्यासार्थ प्रश्न

प्रश्न 1 प्रोटोप्लास्ट किसे कहते है तथा प्रोटोप्लास्ट विलगन किन-2 विधियों से किया जाता है?

प्रश्न 2 प्रोटोप्लास्ट संवर्धन क्या है तथा इसकी विभिन्न विधियों का वर्णन कीजिए?

प्रश्न 3 कायिक संकरण किसे कहते है? तथा प्रोटोप्लास्ट संगलन किन-2 विधियों से किया जाता है?

प्रश्न 4 कायिक संकरण के अनुप्रयोग लिखिए?

प्रश्न 5 परागकोष संवर्धन किसे कहते है तथा इनके विभिन्न अनुप्रयोग समझाइये?

इकाई 9

पादप उत्तक संवर्धन के अनुप्रयोग एवं उपलब्धियाँ

Plant Tissue Culture : Practical Applications and Achievements)

इकाई की रूपरेखा

9.0 उद्देश्य
9.1 प्रस्तावना
9.2 उपलब्धियाँ
9.3 बोध प्रश्न
9.4 सारांश
9.5 शब्दावली
9.6 संदर्भ ग्रंथ
9.7 बोध प्रश्नों के उत्तर
9.8 अभ्यासार्थ प्रश्न

9.0 उद्देश्य (Objectives)

उच्चवर्गीय पादपों में सभी भिन्न प्रकार की कोशिकाओं की उत्पत्ति एककोशिकी युग्मनज के विभाजन व विभेदन से होती है । अत: सभी कोशिकाओं के DNA में पूर्ण पादप परिवर्तन की सभी निहित होती है । पादप उत्तक तकनीक का विकास अनेक वैज्ञानिकों के अथक प्रयासों के फलस्वरूप संभव हो सका है । इस तकनीक के महत्व की संक्षिप्त रूपरेखा का वर्णन यहाँ किया जा रहा है ।

9.1 प्रस्तावना (Introduction)

पादप ऊतक संवर्धन (Plant Tissue Culture) से हमारा तात्पर्य विभिन्न प्रकार की पादप कोशिकाओं ऊतकों (Tissues) एवं पादप अंगों (Plant Organs) के पात्र संवर्धन (In Vitro Culture) से है । लेकिन सीमित परिप्रेष्य में इसका अर्थ पादप कोशिकाओं के असंगठित प्रारूप अर्थात कैलस संवर्धन (Callus Culture) से है ।

उत्तक संवर्धन (Tissue Culture) तथा मेरीस्तेम संवर्धन (Meristem Culture) वाइरस मुक्त पौधों, क्लोनीय प्रवर्धन व जननद्रव्य संरक्षण (Germplasm Conservation) में उपयोगी है । पादप कोशिकाओं, ऊतकों (Tissues) एवं अंगों के उपयोग उत्पाद एवं सेवाओं की प्राप्ति पादप बायोटेक्नोलॉजी है इन उदेश्यों की पूर्ति के लिये पादप ऊतक संवर्धन करते है ।

कृष्य जैव प्रौद्योगिकी की उपलब्धियाँ

आधुनिक जीवन विज्ञान के अध्ययन में पादक ऊतक संवर्धन की तकनीकी द्वारा इस क्षेत्र में सतत् अनुसंधान के परिणामस्वरूप अनेक महत्वपूर्ण उपलब्धियाँ सामने आई हैं । इन खोज कार्यों का उपयोग आज पर्यावरण कारण सम्बन्धी अनेक ज्वलन्त समस्याओं को सुलझाने एवं फसल उत्पादन तथा गुणवत्ता सुधार जैसे लक्ष्य प्राप्त करने के लिए किया जा रहा है । ऊतक संवर्धन क्षेत्र की विशेष एवं महत्त्वपूर्ण उपलब्धियाँ निम्न हैं -

1. सूक्ष्म प्रवर्धन द्वारा प्रादप प्रवर्धन ।
2. रोग-मुक्त पौधों का उत्पादन ।
3. पुंजनीय अनुगणित पौधे व इनका फसल सुधार में उपयोग ।
4. रोग प्रतिरोधी एवं प्रतिबल प्रतिरोधी पौधों का उत्पादन ।
5. सफल संकरण के भ्रूण को विमुक्त करना ।
6. कायक्लोनीय विविधताएँ ।
7. कृत्रिम या सम्पुटित बीज उत्पादन ।
8. जर्म प्लाज्मा का भण्डारण तथा आदान-प्रदान ।
9. दूरस्थ संकरण हेतु जीवद्रव्यीय तकनीकी का उपयोग ।

1. सूक्ष्म प्रवर्धन द्वारा पादप प्रवर्धन (Plant propagation by micrpropagation)

ऊतक संवर्धन के अन्तर्गत सूक्ष्म प्रवर्धन (Micropropagation) एक ऐसी तकनीक है, जिसकी सहायता से कायिक प्रजनन द्वारा पैदा किये जाने वाले आर्थिक महत्व के पौधे का बहुत तेजी से बहुगुणन किया जा सकता है । इस प्रक्रिया के द्वारा बहुत ही कम समय में व कम स्थान मे बहुसंख्य पौधों का विकसित कर देना इसकी प्रमुख विशेषता कही जा सकती है । अनेक उपयोगी एवं आर्थिक महत्व के पौधों, जैसे आर्किड्स में, सिम्बीडियम वान्डा डेन्ड्रोबियम, केटेलिया तथा अन्य शोभाकारी पौधों जैसे बिगोनिया गुलदाऊदी, कारनेशन एवं जरबेरा के तीव्र बहुगुणन में इस तकनीक का उपयोग किया गया हैं ।

इस प्रकार सूक्ष्म प्रवर्धन तकनीक द्वारा उपयोगी एवं महत्वपूर्ण पौधों के प्रवर्ध्य (Clone) बहुत थोड़े समय में व बहुत अधिक संख्या में प्राप्त किये जा सकते हैं । यहाँ उल्लेख कर देना आवश्यक है कि किसी भी पौधे के यथावत् प्रतिरूपों के कृत्रिम पोषण माध्यम पर विकसित करने की प्रक्रिया क्लोनिंग अत्यन्त उपयोगी व लाभकारी हो सकती है ।

(i) कुछ पौधों जैसे केला (Musa, Banana) में जहाँ बीज या तो कम बनते हैं, या इनके विकसित होने में अनेक बाधाएँ आती हैं, वहाँ यह लाभदायक तकनीक है ।

(ii) क्लोनिंग द्वारा किसी भी पादप की विषम युग्मजी व एकलिंगश्रयी, सर्वोतक संकर नस्ल का प्रवर्धन आगामी पीढ़ियों के रूप में किया जा सकता है ।

(iii) दुर्लभ एवं संकटग्रस्त, या विलुप्ति के कगार पर पहुँचे पौधें का गुणन क्लोनिंग द्वारा किया जा सकता है।

ऊतक संवर्धन के अन्तर्गत सूक्ष्म प्रवर्धन निम्न विधियों द्वारा किया जाता है ।

(a) कक्षस्थ कलिकाओं के प्रचुरोद्भवन द्वारा (By proliferation axillary buds) : इच्छित पादप के प्ररोह शीर्षों (Shoot tips) या पूर्व संधियों के टुकड़ों (Nodal segments) को

इस प्रक्रिया में कर्तोतक (Explants) के रूप में प्रयुक्त करते हैं । यहाँ माध्यम में उपस्थित साइटोकाइनिन के प्रभाव से इन कर्तोतकों में उपस्थित कलिकाएँ प्ररोहों (Shoots) के रूप में विकसित हो जाती है ।

(b) अपस्थानिक कलिकाओं को कर्तोतक पर वृद्धि के द्वारा (By the formation of adventitious buds on explants) : यही सूक्ष्म संवर्धन के लिए इच्छित पौधों की ऐसी संरचनाओं जैसी पत्ती व मूल को काम में लिया जाता है, जिन पर अपस्थानिक कलिकाओं का विकास होता है ।

(c) कायिक भ्रूणोद्भवन (Somatic embrygenesis) : पादप ऊतक संवर्धन की प्रक्रिया में द्विगुणित कायिक कोशिकाओं द्वारा विकसित भ्रूणों का कायिक भ्रूण (Somatic Embryo) या भ्रूणाम (Embroid) कहा जाता है, तथा इनके बनने की क्रियाविधि को भ्रूणोद्भवन (Somatic embryogenesis) कहते हैं ।

सूक्ष्म प्रवर्धन के लाभ (Advantages of micropropagation)

1. कर्तोतक के रूप में पादप ऊतक की आवश्यकता अल्प मात्रा में होती है ।
2. बहुत तेजी से बहुगुणन तथा आसानी से एकरूपता का अनुरक्षण ।
3. लैंगिक प्रक्रिया द्वारा विकसित बन्ध्य संकरों का बहुगुणन सम्भव ।
4. बहुत कम स्थान में व बहुत बड़ी संख्या में क्लोन उत्पन्न करना सम्भव ।
5. विभिन्न पौधों के अन्तर्राष्ट्रीय आदान-प्रदान में सुविधाजनक ।

2. रोग-मुक्त पौधों का उत्पादन (Production of disease-free plants)

अधिकांशत: जिन पौधों में कायिक प्रवर्धन (Vegetative propagation) होता है, उनमें जनक पौधों में कायिक प्रर्वध्यों (Propagules) से अनेक प्रकार के रोगकारी सूक्ष्म जीवों तथा रोगाणुओं, विशेषकर वाइरसों का संचरण (Transmission) संतति पौधों में होने की सम्भावना रहती है । इससे नवविकसित पादप प्रारम्भ से ही रोगग्रस्त हो जाते हैं । यह एक सर्वविदित तथ्य है कि कायिक प्रवर्धन के दौरान वाइरस व माइकोप्लाज्मा-जनित रोगों का प्रसार बहुतायत से होता है ।

3. पुंजनीय अगुणित पौधे एवं इनका फसल सुधार में उपयोग (Androgenic haploids & their use in crop improvements) अथवा पराग संवर्धन (Anther culture)

पौधे की नर अगुणित कोशिका विशेषकर पराग कण (Pollen) के कृत्रिम पोषण के माध्यम पर संवर्धन द्वारा विकसित आ को अगुणित भ्रूण (Haploid embryo) कहा जाता है । पिछले अनेक वर्षों से अगुणित भ्रूणों का उपयोग फसल सुधार के लिए किया जाता रहा है । पादप प्रजनन-विज्ञानियों के लिए अगुणित ला काफी उपयोगी होते हैं, क्योंकि इनसे समयुग्म की द्विगुणित या बहुगुणित पादप प्राप्त किये जा सकते हैं ।

इस क्षेत्र में उल्लेखनीय सफलता का श्रेय दो प्रसिद्ध भारतीय वनस्पतिशास्त्रियों एस. गुहा एवं प्रो. सतीश माहेश्वरी (S. Guha & S.C. Maheswari) को दिया जा सकता है, जिनके

द्वारा सर्वप्रथम सन् 1966 में धतूरा (Datura) के परागकणों को संवर्धन माध्यम में रख कर इनसे पुंजनीय अगुणित धतूरे के पौधे विकसित किये गये ।

4. **रोग प्रतिरोधी एवं प्रतिबल प्रतिरोधी पौधों का उत्पादन (Producation of disease and stress resistant plants)**

हमारी इस धरती पर अनेक आवास स्थलियाँ इस प्रकार की हैं, जिनमें पेड़-पौधों की बहुत कम प्रजातियां पाई जाती हैं, व इन स्थानों की वातावरणीय परिस्थितियाँ सामान्यतया पेड़-पौधों की वृद्धि के लिए अनुकूल नहीं होती । प्राय: इस प्रकार के आवासों में पेड़-पौधों की कमी वहाँ की प्रतिबलकारी परिस्थितियों द्वारा नियन्त्रित होती हैं । उच्च क्षारीयता या आम्लीयता अथवा उच्च आयनिक सांद्रता या अतिशुष्क परिस्थितियाँ या अतिन्यून तापक्रम इसी प्रकार की प्रतिबलकारी (Stress) परिस्थितियों के प्रमुख उदाहरण हैं, जो कि सामान्य प्रादप प्रजातियों की वृद्धि का निरोधन करती हैं ।

5. **सफल संकरण के लिए भ्रूण को विमुक्त करना (Rescue of embryo for successful hybridization)**

प्राय: यह देखा गया है कि अधिकांश उदाहरणों में अन्तरजातीय संकरण (Intergeneric cross) पादप प्रजनन की परम्परागत विधियों में सफल नहीं हो पाते, क्योंकि ये दूरस्थ संकरण (Distant hybridizations) होते हैं जिन में भ्रूणों की मृत्यु दर, तथा बीजों के नष्ट होने की घटनाएँ बहुत अधिक होती है । अत: इस प्रकार के संवेदनशील अन्तरजातीय भ्रूणों को नष्ट होने से बचाने के लिए ऊतक संवर्धन प्रक्रिया का सहयोग लिया जा सकता है ।

6. **कायक्लोनीय विविधताएँ (Somaclonal variations)**

सामान्यत: पादप अंग से विलगित कायिक कोशिकाओं का संवर्धन करवाने पर इनसे कायिक भ्रूणों (Somatic embryos) का विकास होता है । यह प्रक्रिया कायिक भ्रूणोद्भवन (Somatic embryogenesis) कहलाती है । इस प्रकार प्राप्त कायिक तो के विकास से जिन पौधों का परिवर्धन होता है, उनमें जनक पौधों की तुलना में कुछ अलग लक्षण निरूपित होते है, अर्थात् इनमें जनक पौधों से विभिन्नताएँ (Variations) परिलक्षित होती है । इस प्रकार की विभिन्नताओं (Variations) को कायक्लोनीय विभिन्नताएँ (Somaclonal variations) कहा जाता है । इनमें से कुछ परवर्ती (Variants) पादप समयुग्मजी (Homozygous) हो सकते हैं, लेकिन ऐसे अधिकांश पौधे विषमयुग्मजी (Heterozygous) पाये जाते हैं ।

7. **कृत्रिम या संपुटित बीज का निर्माण (Production of synthetic encapsulated or artificial seeds)**

ऊतक संवर्धन क कार्यक्षेत्र में संपुटित बीज की सर्वप्रथम टी. मुराशीगो (T. Murashige 1977) द्वारा प्रस्तुत की गई थी । इसके अन्तर्गत उपयुक्त रक्षक व पोषक पदार्थो की पीठिका (Matrix) द्वारा कायिक भ्रूणों को संपुटित (Capsulated) कर देने के

परिणामस्वरूप बनने वाली संरचना को कृत्रिम या संपुटित (Artificial or capsulated seed) कहते हैं । यह देखा गया है कि प्राय: परम्परागत विधियों द्वारा क्लोनीय या ऊतक संवर्धन करने में पौधों के प्रवर्ध्यों (Clones or propagules) के परिवहन एवं भण्डारण की प्रमुख समस्या रहती है । ऐसी अवस्था में इस समस्या के निराकरण (Remedy) हेतु कृत्रिम बीजों का निर्माण एवं विकास किया जाता है । आदर्श एवं उपयुक्त कृत्रिम बीजों के निर्माण के लिए कायिक भ्रूणों को Ca/Na ऐल्जीनेट्स (Alginates) के द्वारा तैयार पीठिका में सुरक्षित एवं आवरित (Enclosed) कर दिया जाता है ।

8. जर्मप्लाज्म (जनन द्रव्य) का भण्डारण एवं विनिमय (Storage and Exchange of Germplasm)

हमारी धरती पर उपस्थित सभी प्रकार की पादप प्रजातियों का स्वयं का एक विशेष आनुवंशिक संगठन होता है । इस प्रकार प्रत्येक जैव या पादप प्रजाति के आनुवंशिक संगठन को उसका जननद्रव्य या जर्मप्लाज्म (Germplasm) कहते हैं । जब तक कोई भी पादप प्रजाति मौजूद रहती है तो उसके जननद्रव्य का अस्तित्व भी बना रहता है । इस प्रकार पृथ्वी पर आनुवंशिक संसाधन (Genetic resources) विभिन्न सजीवों एवं पादप प्रजातियों के रूप में संचित होते रहते हैं । लेकिन आज के युग में अनेक दुर्लभ एवं उपयोगी पादप प्रजातियाँ तेजी से विलुप्त हो रही है; इस कारण इनके जननद्रव्य या जर्मप्लाज्म के संरक्षण एवं भण्डारण की आवश्यकता महसूस की जा रही है । अध्ययन की प्रारम्भिक अवस्थाओं में जर्मप्लाज्म संरक्षण की कुछ परम्परागत विधियाँ प्रस्तुत की गई थी, लेकिन इनके सीमित महत्त्व के कारण ये विधियाँ आज चलन में नहीं है । आधुनिक जैव प्रौद्योगिकी के अध्ययन क्षेत्र के अन्तर्गत जर्मप्लाज्म के संरक्षण या भण्डारण की एक प्रभावी विधि विकसित की गई है, इसे हम जीव विज्ञान (Cryobiology) कहते हैं । इसमें अति न्यूनतम तापक्रम पर जर्मप्लाज्म का भण्डारण व संरक्षण लम्बे समय तक के लिए किया जा सकता है ।

9. दूरस्थ संकरण हेतु जीवद्रव्यक तकनीक (Proplast technology for distant hybridization)

आधुनिक जैव प्रौद्योगिकी के विस्तार क्षेत्र के अन्तर्गत दूरस्थ पादप प्रजातियों के संकरण द्वारा जननक्षम (Fertile) संकर पादप विकसित कर लिए जाते हैं । इसका अर्थ यह हुआ अत्यधिक भिन्न आनुवंशिकता वाले जनक पौधों का सफलतापूर्वक संकरण करवाया जा सकता है । इस प्रकार दो पूर्णरूपेण भिन्न पादप वंशों या प्रजातियों के बीच सम्पन्न संकरण क्रिया को दूरस्थ संकरण (Distant hybridization) कहते हैं । सामान्य अवस्थाओं में ऐसी संकरण प्रक्रियाएँ प्राय: सफल नहीं होती हैं और यदि सफल हो भी जाती हैं तो इनसे बन्ध्य संकर पौधे (Sterile hybrids) उत्पन्न होते हैं ।

कुछ पौधों में सफल दूरस्थ संकरण के प्रमुख उदाहरण निम्न प्रकार से है :

(a) अन्तरप्रजातीय संकरण (Interspecific hybridization) :

(I) Brassica oleracea x B. campestris

(II) Lycopersicon esculentum x L. peruvianum

(b) अंतरवर्षीय संकरण (Intergeneric hybridization)

(I) Raphanus sativus x Brassica oleracea = Raphno brassica

(II) Datura innoxia x Atropa belladonna= Daturotropa

(III) Lycopersicum esculentum x Solanum tuberosum = **Pomato**

9.3 बोध प्रश्न

नोट : 1. प्रत्येक प्रश्न में छोड़ी गयी जगह का इस्तेमाल अपने उत्तर लिखने के लिए करें ।

2. अपने उत्तर इकाई के अन्त में दिये गये उत्तरों से मिलाऐं ।

प्रश्न 1 रिक्त स्थानों को भरो -

1. Ca/Na एल्जीनेट पीठिका का उपयोग..... निर्माण के लिए करते हैं।
2. एक सजीव पादप के आनुवंशिक संगठन को उसका..... कहते है ।
3. कायिक भ्रूण ..... से बनते है ।
4. अति न्यून हिमीकृत तापमान पर जननद्रव्य का संरक्षण..... के अन्तर्गत आता है ।

प्रश्न 2 बहुविकल्पी प्रश्न

निम्न में से सही उत्तर कोष्ठक में लिखे -

1. गुहा एवं माहेश्वरी ने सर्वप्रथम पुंजनीय अगुणित विकसित किये थे ।
   (अ) धतूरा (ब) म्यूजा (स) करेला (द) चावल
2. पौधों में सूक्ष्म प्रवर्धन की मुख्य विधियाँ है-
   (अ) तीन (ब) दो (स) चार (द) अनेक
3. अधिकांश शोभाकारी पौधों का संचरण व प्रवर्धन होता है -
   (अ) कायिका जनन (ब) लैंगिक जनन (स) अलैंगिक जानन (द) किसी से नहीं
4. कायिक भ्रूणोद्भवन में आ उत्पन्न होते है-
   (अ) भ्रूणकोष द्वारा (ब)अंडकोशिका द्वारा (स)द्विगुणित कायिक (द) सहाय कोशिका द्वारा

प्रश्न 3 निम्नलिखित प्रश्नों का संक्षिप्त में उत्तर दो -

1. कैलेस किसे कहते है?

.....

2. किन्हीं दो संवर्धन माध्यमों के नाम बताइये ।

.....

3.जैव प्रौद्योगिकी की परिभाषा दीजिये ।

.....

9.4 सारांश (Summary)

कोशिका विज्ञान पादप कार्यिकी के समान पादप ऊतक संवर्धन, वनस्पति विज्ञान की अलग शाखा नहीं हैं लेकिन यह प्रायोगिक विधियों का संग्रह है जिनके द्वारा वियोजित (Isolated) कोशिकाओं या ऊतकों को निर्जर्मित (Sterile) व नियंत्रित अवस्था में उगाया जाता है । साधारणतया, पादप ऊतक संवर्धन का तात्पर्य पादप कोशिकाओं, ऊतकों तथा अंगों के पात्रे (Invitro) संवर्धन से होता है । प्रत्येक कोशिका विशेष पर्यावरण व पोषण की उपस्थिति में एक पूर्ण जीव के सभी लक्षणों को परिवर्तित करने में सक्षम होती है । पादप ऊतक तकनीक का विकास अनेक वैज्ञानिकों के अथक प्रयासों के फलस्वरूप सम्भव हो सका है ।

9.5 शब्दावली (Glossary)

1. **ऊतक संवर्धन (Tissue culture) :** पादप कोशिकाएँ या कर्तोतक को ठोस या अर्धठोस या द्रव पोष माध्यम पर संवर्धित करने पर असंगठित व अविभेदित प्रचुरोद्भवन (Proliferating) कैलस या ऊतक निर्माण को ऊतक संवर्धन कहते है ।
2. **विभाज्योतक संवर्धन (Meristem culture) :** शीर्षस्थ या कक्षस्थ (Axillary) विभाज्योतक को प्रतिरोधी (Antiseptic) परिस्थितियों में संवर्धन माध्यम पर संवर्धित कर पूर्ण पादपकों (Plantlet) के विकास को विभाज्योतक संवर्धन कहते है ।
3. **हिम संरक्षण (cryopreservation) :** इस विधि में कोशिकाओं, प्ररोहाग्रों, भ्रूणों, कायिक लगे आदि का भण्डारण 196° C पर द्रव नाइट्रोजन से करते है ।
4. **कायिक भ्रूणोद्भवन (Somatic embryogenesis) :** द्विगुणित कायिक कोशिकाओं द्वारा विकसित भ्रूणों के बनने की क्रियाविधि को भ्रूणोद्भवन कहते है ।

9.6 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Book)

1. Plant Tissue Culture - M.K. Razdan
2. Biotechnology - P.K. Gupta

9.7 बोध प्रश्नों के उत्तर

प्रश्न 1 1. कृत्रिम बीज
2. जर्मप्लाज्म
3. सतही कोशिकाओं
4. क्रायोबायोलॉजी

प्रश्न 2 1. अ
2. ब
3. अ

4. स

प्रश्न 3 1. असंगठित, अविभेदित कोशिकाओं का समूह कैलस कहलाता है ।

2. मुराशिगे एवं स्कूग माध्यम (MS Medium), वाइट माध्यम (White's Medium)

3. विज्ञान व इंजीनियरी के सिद्धान्तों के उपयोग एवं जैविक कारकों की सहायता से उपयोग उत्पादों का उत्पादन किया जाता है ।

9.8 अभ्यासार्थ प्रश्न (Exercise Question)

प्रश्न 1 कृत्रिम बीज

प्रश्न 2 सूक्ष्म प्रवर्धन को समझाइए ।

प्रश्न 3 कायिक भ्रूणोद्भवन का वर्णन कीजिए ।

प्रश्न 4 पूर्णशक्तता किसे कहते हैं? विस्तार से समझाइये ।

प्रश्न 5 कोशिकांग क्या हैं?

प्रश्न 6 अंगजनन किसे कहते हैं?

प्रश्न 7 पादप ऊतक संवर्धन तकनीक - फसल सुधार कार्य में किस प्रकार सहायक कार्य है? विस्तार से समझाइये ।

इकाई 10

पुनर्योजन डी.एन.ए. प्रौद्योगिकी की तकनीक : रेस्ट्रीक्शन एन्जाइम, वाहक प्लाज्मिड, कोस्मीड ट्रांसपोसोन्स (Recombinant DNA Technology Technique; Restriction enzyme, vector, plasmid, cosmid, transposons)

इकाई की रूपरेखा

10.0 प्रस्तावना

10.1 उद्देश्य

10.2.1 पुनर्योजन DNA प्रौद्योगिकी की तकनीक

10.2.2 इच्छित जीनों की पहचान एवं पृथक्करण

10.2.3 इच्छित जीनों को वेक्टरों में जोड़ना

10.2.4 वाहक (Vector)

10.2.5 जीवाणु कोशिका में वाहकों की स्थापना

10.2.6 इच्छित जीनों की पहचान

10.2.7 ट्रान्सपोसोन्स

10.2 बोध प्रश्न

10.3 सारांश

10.4 शब्दावली

10.5 संदर्भ ग्रन्थ

10.6 बोध प्रश्नों के उत्तर

10.7 अभ्यासार्थ प्रश्न

10.0 उद्देश्य (Objective)

1. किसी इच्छित DNA की बहुत सी प्रतियाँ प्राप्त करना ।
2. किसी DNA खण्ड या जीन के द्वारा उत्पादित प्रोटीन की बड़ी मात्रा को प्राप्त करना ।
3. किसी भी सजीव के क्रोमोसोम में विशेष प्रकार के DNA या जीन को समाकलित (intergrate) करना जहाँ से इसकी भली-भांति अभिव्यक्ति (expression) भी हो सकें ।

10.1 प्रस्तावना (Introduction)

प्रयोगशाला में किसी भी प्रकार के मूल DNA में हेरफेर (Manipulation) तथा मॉनीटरिंग (monitoring) करने से इसकी संरचना अर्थात् क्षार क्रमों में परिवर्तन आ जाता है तो इसे पुनर्योजन डी.एन.ए. प्रौद्योगिकी (Recombinant DNA Technology) कहते है तथा इस प्रकार के DNA को पुनर्योजन डी.एन.ए. (Recombinant DNA) कहा जाता है ।

सामान्यतया पुनर्योगिक DNA अणु का निर्माण दो या दो से अधिक पूर्णतया भिन्न DNA अणुओं को आपस में जोड़कर किया जाता है तथा ये भिन्न DNA अणु भी अलग-अलग सजीवों से प्राप्त किये जाते हैं । वस्तुत: परिष्कृत रूप में यह एक ऐसा DNA खण्ड या वाहक (Vector) होता है, जिसके साथ किसी इच्छित DNA खण्ड को निवेशित किया जाता है । इच्छित DNA अणुओं के निर्माण के लिए प्राय: एक प्रकार के विशिष्ट एन्जाइम प्रतिबन्धित एन्जाइमों (Restriction enzymes) की सहायता से पहले DNA खण्डों को काटकर या तोड़कर इनसे इच्छित DNA के टुकड़ों को अलग किया जाता है और इस प्रकार पृथक इच्छित DNA खण्डों को आपस में या वाहक खण्डों (Vector DNA) के साथ जोड़ा जाता है । इस प्रक्रिया द्वारा हम किसी भी सजीव के DNA खण्ड या जीन को दूसरे जीव में किसी भी जीन के खण्ड या नियामक अनुक्रमों से जोड़कर एक नवीन गुणधर्म वाला DNA खण्ड या जीन निर्मित कर सकते हैं । इस प्रकार के DNA खण्डों को काइमेरीय जीन (Chimeric DNA) कहते हैं । आधुनिक जीन अभियांत्रिकी (Genetic engineering) में निम्नलिखित उद्देश्यों को प्राप्त करने के लिए पुनर्योजन DNA (Recombinant DNA) का निर्माण किया जाता है -

10.1.1 पुनर्योजन DNA प्रौद्योगिकी की तकनीक (Techniques of Recombinant DNA Technology)

जीव-विज्ञान की नवीनतम शाखाओं में जैव प्रौद्योगिकी (Biotechnology) को सर्वाधिक महत्वपूर्ण विधा माना जा सकता है । इस तकनीक का सर्वोपरि उद्देश्य विभिन्न सजीव जन्तुओं एवं पौधों की आनुवंशिकता में पर्याप्त गुणवत्ता का सुधार करना है । इस सर्वप्रमुख उद्देश्य की प्राप्ति हेतु अनेक तकनीकों (Techniques) को अपनाया गया है । समग्र रूप से इन तकनीकों को विभिन्न नामों से जाना जाता है, जैसे DNA क्लोनिंग या जीन अभियांत्रिकी इत्यादि (DNA cloning or Genetic engineering etc.)

इस विधा के अध्ययन के बारे में हम यह विश्वासपूर्वक कह सकते हैं कि डॉ. हरगोविन्द खुराना (Khurana 1970) ने परखनली में जीन का संश्लेषण करके पुनर्योजन DNA तकनीक के ज्ञान को एक ठोस धरातल प्रदान किया । इसके 2 या 3 वर्ष बाद हेमिल्टन स्मिथ (Hamilton Smith) नामक सुप्रसिद्ध वैज्ञानिक ने जीवाणु प्रजाति इशर्शिया कोलाई (E. Coli) की कोशिकाओं से कुछ विशेष प्रकार के एन्जाइम समूहों की खोज की । इन एन्जाइम्स का नाकरण रेस्ट्रिक्शन एन्डोन्यूक्लिएसेस टाइप II (Restriction Endonucleases Type II) के रूप में किया गया । इस प्रकार के एन्जाइम्स प्रयुक्त कर अथवा इनकी सहायता से इशर्शिया कोलाई

(E. coli) जीवाणु में अनेक प्रकार की रूपान्तरण तकनीकों का विकास किया गया । इन तकनीकों में DNA अणु का कटाई, इस प्रकार कटे हुए DNA खण्डों को दूसरे प्रकार के DNA से जोड़ना या DNA खण्डों की क्लोनिंग करना या पुनर्योजन DNA का अध्ययन एवं परीक्षण इत्यादि कार्य किये जाते है । वैसे आज के समय में पुनर्योजन DNA तकनीक के अन्तर्गत इस प्रकार के अध्ययन यूकेरियोटिक कोशिकाओं में भी किये जा रहे हैं ।

पुनर्योजन DNA तकनीक के प्रमुख चरण निम्न प्रकार से है -

1. इच्छित जीनों की पहचान एवं पृथक्करण ।
2. इच्छित जीनों का रोगवाहकों या वेक्टरों में निवेश करना ।
3. प्लाज्मिडों को जीवाणु कोशिका में स्थापित करना तथा दाता DNA का बहुगुणन या क्लोनिंग।
4. उपयोगी क्लोन की गई जीनों की पहचान एवं इनको अन्य जीवों में स्थानान्तरित करना ।

10.1.2 इच्छित जीनों की पहचान एवं पृथक्करण (Identification and isolation of genes)

एक प्रारूपिक DNA अणु में न्यूक्लिओटाइडो के अनुक्रम (sequences) पाये जाते हैं जो कि अनेक प्रकार के प्रोटीनों को कोडित करने का कार्य करते हैं । यहाँ जीनों की पहचान करने से हमारा तात्पर्य किसी विशेष प्रकार के एन्जाइम संकुचन न्यूक्लियेस या रेस्ट्रिक्शन एंडोन्यूक्लियेस (Restriction endonuclease) की सहायता से सम्पादित किया जाता है । इनका प्रमुख कार्य अपनी कोशिका के DNA की बाहरी DNA से रक्षा करने का होता है । इसके अतिरिक्त इन एन्जाइमों में अपने मातृक DNA के विशेष अनुक्रमों की पहचान तथा इनको अलग करने की विलक्षण क्षमता भी होती है । इस प्रकार के एन्जाइमों को इसीलिए अनुक्रम-विशिष्ट एन्जाइम (Sequence specific enzyme) भी कहा जाता है । इसीलिए DNA अणु का वह स्थल जहाँ का न्यूक्लिओटाइड अनुक्रम रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम से तुल्यपरकता (match) प्रदर्शित करता है, रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम उस बिन्दु को काट कर अलग कर देते हैं । सामान्यत: अधिकांश रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम प्राय: 4 से 6 न्यूक्लिओटाइड लम्बाई की क्षारीय अनुक्रमों की पहचान करते है, अर्थात् ये पहचान की जाने वाली क्षारीय अनुक्रमें छोटी होती है । ये संकुचन एन्जाइम्स पहचान किये गये अनुक्रम के साथ सम्बद्ध होकर DNA के दोनों सूत्रों (strands) को विशेष बिन्दु पर काट देते हैं या अलग कर देते हैं । इसके परिणामस्वरूप इच्छित DNA खण्ड या जीन अलग हो जाता है ।

अनके प्रोकेरियोटिक सजीव कोशिकाओं से असंख्य प्रकार के रेस्ट्रिक्शन एन्जाइमों का विलगन (isolation) किया जाता है । इन एन्जाइमों का संकुचन स्थल (Restriction site) भी अलग-अलग होता है एवं ये विविध प्रकार के जीनों की पहचान करके इनको काट कर मुख्य DNA खण्ड से अलग कर देते हैं । (सारणी संख्या 1)

सारणी 1 - रेस्ट्रिक्शन एंडोन्यूक्लिएस एन्जाइम. स्त्रोत एवं पृथक्करण स्थल
(Restriction Endonucleases : Sources and Cleavage sites)

क्र.सं. S. No.	**एन्जाइम (Enzyme)**	सूक्ष्म जीव (स्त्रोत) (Microrganism (Sources)	लक्ष्य अनुक्रम तथा विदलन स्थल (Target sequence and Cleavage site)
1	Eco. RI	इशर्शिया कोलाई (Escherchia coli)	G↓AA/TC CTT/AA↓G
2	Hae II	हीमोफीलस इजिप्टियस (Haemophilus aegyptius)	PuGC/GC↓G Py↓CG/CGPu
3	Bam HI	वेसीलस एमाइलोलिक्वीफेसेयेन्स (Bacillus amyloliquifacience)	G↓GA/TCC CCT/AG↓G
4	Taqu I	थरमस एक्वेटिकस (Thermus aquaticus)	T↓C/GA AG/C↓T

विशिष्ट :

1. सारणी में सीधी रेखा प्रत्येक अनुक्रम में अक्ष की सममिति को प्रदर्शित करती है ।
2. Pu तथा Py क्रमश: प्यूरीन व पाइरीमिडिन को दर्शाते है ।
3. तीर का निशान विदलन स्थल को परिलक्षित करता है ।

विभिन्न प्रकार के रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम (Different types of Restriction enzymes) : सामान्यतया विभिन्न सजीवों में तीन प्रमुख प्रकार के रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम पाये जाते हैं, जिनको क्रमश: RI, RII व RIII कहते है । RI व RII प्राय: जटित एवं लम्बी क्षारीय अनुक्रमों द्वारा निर्मित होते हैं, इनमें एन्डोन्यूक्लिएस व मिथाइलेस दोनों की सक्रियता होती है ।

प्रारूप I (Type I) एन्डोन्यूक्लिएस एन्जाइमों के अभिज्ञानक्रम 15 bp (Base pairs : क्षारक युग्म) लम्बाई के होते है और ये DNA अणु को अभिज्ञान क्रम में स्थित "TCA" क्षारक क्रम के 5' छोर से 1000 bp दूर काटते हैं अथवा विदलित करते हैं । लेकिन इसके विपरीत प्रारूप II (Type II) संकुचन न्यूक्लियेस या रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम अभिज्ञान क्रम के भीतर या एकदम इसके पास से विदलित करते हैं । अभी तक कुल 350 से अधिक प्रारूप II प्रकार के रेस्ट्रिक्शन एन्जाइमों की जानकारी मिल चुकी है, जिनके 100 से अधिक अभिज्ञान क्रमों का पता है । विदलन प्रक्रिया सम्पन्न करने के लिए इन एन्जाइमों को Mg ++ आयनों की आवश्यकता होती है।

रेस्ट्रिक्शन एन्जाइमों का नामकरण (Nomenclature) : इन एन्जाइमों के नामकरण में निम्न तथ्यों पर विशेष ध्यान दिया जाता है :

1. इनके नाम का पहला अक्षर उस सजीव वंश (Genus) के नाम का पहला अक्षर होता है, जिसमें इस एन्जाइम विशेष को खोजा गया था तथा इसे सदैव बड़े अक्षर (Capital letter) में लिखते हैं ।

2. एन्जाइम के नाम के दूसरे व तीसरे अक्षर उस सजीव प्रजाति के नाम के पहले व दूसरे अक्षर होते हैं जिसमें सबसे पहले यह एन्जाइम खोजा गया था, इनको छोटे अक्षरों में लिखा जाता है ।
3. इस प्रकार लिये गये उपरोक्त तीनों अक्षरों को तिर्यक या टेढ़ा (italics) लिखा जाता है, जैसे E. coli से Eco व Haemophilus influenza से Hin इत्यादि ।
4. प्रारूप (type) का नाम या प्लाज्मिड में स्थित जीन द्वारा कोडित होने पर इस प्लाज्मिड का नाम, इस पहले तीन अक्षरों के सामने सामान्य अक्षरों या सीधे रूप से लिखते है, तिर्यक अक्षरों में नहीं ।
   जैसे Eco RI
5. जहाँ आवश्यक हो वहाँ R शब्द को उपरोक्त नाम के पहले भी लिखा जाता है, जिससे कि रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम का बोध हो सके, जैसे-R Eco RI से R Hin d III इत्यादि । लेकिन फिर भी R शब्द को सामान्यतया नहीं लिखा जाता क्योंकि सन्दर्भ से ही रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम के बारे में जानकारी मिल जाती है ।

10.1.3 इच्छित जीनों को वेक्टरों में जोड़ना (Incorporation of desired genes into Vectors)

उपरोक्त प्रक्रिया में R-एन्जाइम द्वारा विलगित या काटे गये DNA खण्ड बहुत अधिक संख्या में निर्मित होते हैं । इनमें से कुछ जीनों में लक्षणों के माध्यम से अपने आप को अभिव्यक्ति करने की क्षमता होती है, इसके विपरीत कुछ जीन या DNA खण्ड स्वयं को अभिव्यक्त करने में अक्षम होते हैं । अभिव्यक्तिशील DNA खण्डों में अपनी सूचना को m-RNA के रूप में अनुलेखित करने की क्षमता होती है । इस प्रकार से जीन जो अपनी सूचनाओं का m-RNA के रूप में अनुलेखन नहीं कर पाते, उनकी अभिव्यक्ति नहीं होती है । यहाँ पुनर्योजन तकनीक (Recombinant technology) के अन्तर्गत केवल ऐसे DNA खण्डों या जीनों का उपयोग किया जाता है जिनमें अभिव्यक्ति की क्षमता होती है । इसके अन्तर्गत किसी भी कोशिका से पृथक्कीकृत अभिव्यक्तिशील DNA खण्डों या जीनों की RNA की सहायता से पूरक प्रतिलिपियाँ (Complimentary Copies) निर्मित की जाती हैं, इनको अनुपूरक DNA या c DNA (Complimentary DNA) कहते हैं । यह एक अनूठी प्रक्रिया है, जिसमें RNA द्वारा जीनों या c DNA का निर्माण (प्रतिलिपिकरण) होता है । इस प्रक्रिया को प्रतिलोमी अनुलेखन (Reverse trancription) कहा जाता है व इसमें एक विशिष्ट एन्जाइम प्रतिलोमी ट्रान्सक्रिप्टेस (Reverse transcriptase) का उपयोग किया जाता है एवं यह प्रक्रिया अनेक चरणों में सम्पन्न होती है ।

इस प्रकार प्रतिलोमी अनुलेखन द्वारा प्राप्त द्विरज्जुकी c DNA को किसी उपयुक्त वेक्टर (Vector) या रोगवाहक के साथ जोड़ अथवा निवेशित (incorporate) कर दिया जाता है । इसके परिणामस्वरूप जब वेक्टर का बहुगुणन होता है तो वेक्टर (Vector) के साथ-साथ इस c

DNA या जीन खण्ड का भी बहुगुणन हो जाता है एवं इसकी संख्या में वृद्धि हो जाती हैं । इस प्रकार प्रतिलोमी अनुलेखन या वेक्टरों द्वारा अन्य किसी प्रकार के कृत्रिम तरीके से जीनों या DNA खण्डों में वृद्धि करने की प्रक्रिया को DNA क्लोनिंग (DNA cloning) कहते हैं । इसके साथ ही क्लोनिंग द्वारा बड़ी संख्या में निर्मित c DNA गुणसूत्र खण्डों को c DNA पुस्तकालय (c DNA Library) कहते है ।

10.1.4 वाहक (Vector)

यह एक सर्वविदित तथ्य है कि वेक्टर एक DNA अणु होता है, जिसके साथ एक अन्य इच्छित DNA खण्ड को जोड़कर उसे क्लोन किया जाता है, यहाँ इच्छित जीन या DNA खण्ड को केवल उन्हीं रोगवाहकों के साथ क्लोन किया जा सकता है, जिनमें निम्न विशेषताएं होती है :

1. रोगवाहक या वेक्टर DNA परपोषी कोशिका में प्रविष्ट कराने योग्य होना चाहिए ।
2. यह परपोषी कोशिका में अपना रेप्लिकेशन या प्रतिकृतिकरण करने में समर्थ होना चाहिए ।
3. वेक्टर युक्त कोशिकाऐं आसानी से पहचान योग्य होनी चाहिए ।

(a) प्लाज्मिड्स (Plasmids) : यह जीवाणु कोशिकाओं में पाया जाने वाला एक अतिरिक्त गुणसूत्रीय (Extra chromosomal) एवं स्वतंत्र रूप से प्रतिकृतिकरण (Replication) करने वाला एक सूक्ष्म वर्तुलाकार (Circular) DNA खण्ड होता है, जो कि मुख्य गुणसूत्रीय DNA से जुड़ा हुआ अथवा इससे अलग दोनों प्रकार की अवस्थाओं में पाया जाता है । पुनर्योजन तकनीक में विभिन्न प्रयोगों द्वारा प्राकृतिक रूप से पाये जाने वाले प्लाज्मिडों के रूपान्तरण से ऐसे बहुसंख्य प्रकार के रोगवाहकों (Vectors) को विकसित किया जा चुका है, जो DNA क्लोनिंग हेतु पूर्णतया उपयुक्त होते हैं । प्लाज्मिडों को 5-10 kb (किलो बेस) से इच्छित DNA सूक्ष्म खण्डों की क्लोनिंग के लिए सर्वथा उचित एवं उपयुक्त समझा जाता है । कुछ अत्यन्त विशेष परिस्थितियों को छोड़कर प्लाज्मिड्स की उपस्थिति जीवाणु कोशिकाओं के जीवित रहने के लिए आवश्यक नहीं है । वैसे तो जीवाणु कोशिकाओं में अनेक प्रकार के प्लाज्मिड पाये जाते हैं, लेकिन जिन प्लाज्मिड्स के बारे में सर्वाधिक अध्ययन किया गया है, उनमें (1) F_1 प्लाज्मिड (संयुग्मन या Conjugation के लिए उत्तरदायी), (2) R-प्लाज्मिड (एंटीबायोटिक प्रतिरोधी जीनों के लिए) एवं (3) Col प्लाज्मिड (कोलीसिन, Colicin प्रोटीन उत्पादित करने वाले) । प्लाज्मिडों को इनकी संक्रमणशीलता एवं विशिष्ट कार्यों के आधार पर जैसे कोल कारक, प्रतिरोधी कारक एवं लिंग कारक के रूप में वर्गीकृत किया जा सकता है ।

(b) कोस्मिड वाहक (Cosmid Vector) : ऐसे पुनर्योजन प्लाज्मिड (Recombinant Plasmids) जिनमें जीवाणु प्लाज्मिड खण्ड तथा जीवाणुओं वाइरस मुख्यत विभोजी \ DNA दोनों के उपयोगी भाग समाकलित (Integrated) रहते हैं, उनको कोस्मिड्स (Cosmids) कहा जाता है । यहां जीवाणु प्लाज्मिड से \ DNA के समाकलित होने वाले हिस्सों में (1) Cos स्थल एवं (2) टर्मिनेस बन्ध (binding) तथा विदलन स्थल

(cleavage site) कम से कम \ DNS के 250 क्षारीय क्रम उल्लेखनीय हैं । अतः, उपयुक्त अवस्थाओं में ये वाहक \ विभोजी के रिक्त कणों में समाविष्ट (Package) किये जा सकते हैं । इस प्रकार कोस्मिड्स का निर्माण प्लाज्मिड एवं विभोजी वाइरस के DNA से होता है । कोस्मिड वाहक लगभग 5000 से 7000 क्षार युग्म लम्बाई के वर्तुलाकार (Circular) DNA अणु होते है जिनका प्रतिकृतिकरण (Repblication)भी प्लाज्मिड्स की भाँति ही होता है । इनके विशिष्ट कोस स्थल (Cos site) पर उपस्थित विभोजी वाइरस के DNA अनुक्रम पर दाता DNA संयुक्त हो सकता है ।

10.1.5 जीवाणु कोशिका में वाहकों (प्लाज्मिड्स) की स्थापना तथा दाता DNA का गुणन या क्लोनिंग

(Introduction of plasmids into bacterial cells and cloning or multiplication of donor DNA)

संकुचन एन्जाइमों द्वारा काटे गये पृथक्कित दाता DNA इच्छित जीनों को पुनर्योजन प्लाज्मिड्स (Recombinant plasmids) के रूप में जीवाणु कोशिका में प्रविष्ट करवाया जाता है । इस कार्य को रूपान्तरण (Transformation) प्रक्रिया द्वारा सम्पादित किया जाता है । इसके लिए न्यूनतम तापक्रम अर्थात 0 डिग्री सेल्ससियस पर कैल्सियम क्लोराइड ($CaCl_2$) के विलयन में जीवाणु कोशिकाओं एवं पुनर्योजन प्लाज्मिड्स को साथ-साथ रखा जाता है । इस दौरान बीच-बीच में इन दोनों अर्थात् जीवाणु कोशिकाओं एवं पुनर्योजन प्लाज्मिड्स को शीघ्रता से 37 से 43°C तापमान के ऊष्ण विलयन में स्थानान्तरित करके इनको ताप प्रघात (heat shock) दिया जाता है । इस आघात के कारण बैक्टीरिया कोशिकाऐं प्लाज्मिडों को ग्रहण करने की क्षमता प्राप्त कर लेती हैं । हालांकि इस ग्रहण करने की क्षमता को प्राप्त करने की स्पष्ट क्रियाविधि या मूल कारण अभी तक ज्ञात नहीं हो पाये हैं, लेकिन फिर भी यह स्पष्ट है कि इस ताप प्रघात के परिणामस्वरूप पुनर्योजन प्लाज्मिड जीवाणु कोशिकाओं में प्रविष्ट हो जाते है । तत्पश्चात प्लाज्मिड युक्त इन जीवाणु कोशिकाओं को ठोस माध्यम पर रखा जाता है, जहाँ पर प्लाज्मिड युक्त जीवाणुओं की कोलोनियॉ विकसित हो जाती हैं । इन कोलोनियॉ में उत्पन्न बैक्टीरिया कोशिकाएँ सामान्य जीवाणु कोशिकाओं की तुलना में अतिरिक्त लक्षण प्रारूपों (phenotypes) को परिलक्षित करते है। इनके अतिरिक्त गुण पुनर्योजन प्लाज्मिड्स की देन होते हैं एवं उन पर आधारित होते है ।

इस प्रकार जीवाणु कोशिकाओं की संख्या में वृद्धि के साथ-साथ ही इच्छित जीनों की संख्या में भी वृद्धि होती है । यही प्रक्रिया क्लोनिंग (Cloning) कहलाती है । क्लोनिंग की इस प्रक्रिया के परिणामस्वरूप विशेष प्रकार के दाता DNA की असंख्य प्रतिलिपियों का निर्माण होता है ।

10.1.6 उपयोगी या इच्छित क्लोन्ड जीनों की पहचान एवं इनका अन्य सजीवों में स्थानान्तरण (Recognition of useful cloned genes and their transfer in other organisms)

इस प्रकार क्लोनिंग द्वारा प्राप्त अनेक जीन प्रतिलिपियों में से इच्छित या उपयोगी जीनों की पहले पहचान की जाती है तथा भली-भॉति पहचान स्थापित हो जाने के पश्चात् इनका बहुगुणन पुनः उपयुक्त माध्यम पर करवाया जाता है । इसके रेस्ट्रिक्शन एन्जाइमों द्वारा इन जीनों को अलग कर लिया जाता है । इन पृथक जीनों को लाइगेज एन्जाइम की सहायता से वेक्टरों के द्वारा अन्य सजीवों के DNA के साथ संलग्न करवाया जाता है । इस प्रकार वाहक (vector) की सहायता से पुनर्योजन DNA को किसी भी प्रकार की सजीव कोशिका जैसे जीवाणु, यीस्ट, पादप या प्राणी कोशिकाओं में स्थानान्तरित किया जा सकता है । इसके अतिरिक्त जीवाणुविभोजी (Bacteriophage) को भी वाहक या वेक्टर के रूप में बहुतायत से प्रयुक्त किया जाता है । विभोजी द्वारा इच्छित जीन के स्थानान्तरण की क्रिया को जीन-वहन (Transduction) कहते हैं ।

जब किसी भी जीवाणु कोशिका में रूपान्तरण (Transformation) या संयुग्मन (Conjugation) अथवा पारक्रमण द्वारा जब आनुवांशिक सूचनाएँ पुनर्योजित की जाती हैं तो एक नया ही वंशागति तंत्र (hereditary system) विकसित हो जाता है । इस प्रकार नव पुनर्योजित कोशिका नवीन तंत्र के अनुसार बहुगुणन (Multiplication) करती है, अर्थात् दूसरे शब्दों में कोशिका विभाजन के समय इस तंत्र का भी गुणन होता है । उच्चवर्गीय यूकेरियोटिक कोशिकाओं में सजातीय DNA का विनिमय समावेशन के द्वारा होता है तथा ग्राही DNA में प्रवेश करने वाले जीन का एक युग्मविकल्पी प्रारूप (counterpart) भी होता है, क्योंकि सजातीय पुनर्योजन आपसी विनियम करने वाले DNA खण्डों के बीच ही सजातीय पुनर्योजन होता है । इस प्रकार सजीव जगत में विकास का क्रम सजातीय पुनर्योजन द्वारा आगे बढ़ता है । पिछले कुछ वर्षों में किये गये अनुसंधान कार्यों से यह तथ्य सामने आया है कि आनुवंशिक भिन्नता (Genetic variations) का उद्भव केवल उत्परिवर्तन या पुनर्योजन क्रियाओं द्वारा ही नहीं होता अपितु इसके लिए अनेक ऐसी अवैध पुनर्योजन प्रक्रियाएँ भी उत्तरदायी होती है (illegitimate recombinations) जो न्यूक्लिओटाइड अनुक्रम की असमानता या अल्प समानता वाले परम खण्डों के बीच होती हैं । इन पुनर्योजन क्रियाओं के परिणामस्वरूप ऐसे अल्प समजात या अल्प समजात DNA खण्ड भी आपस में जुड़ सकते है । इस प्रकार की पुनर्योजन क्रियाएँ आनुवंशिक सूचनाओं के संगठन एवं अभिव्यक्ति के नियमन में महत्वपूर्ण कार्य करती है । वे आनुवंशिक तत्व या DNA खण्ड जो इस प्रकार के विजातीय पुनर्योजनों को प्रभावित करते है, उनको स्थलान्तरणशील आनुवंशिक तत्व (Transposable genetic elements) कहते हैं ।

10.1.7 इस प्रकार स्थलान्तरणशील आनुवंशिक तत्व (Transposable genetic element)

ऐसे DNA खण्ड होते हैं जो प्रकृति में विभिन्न प्रकार के उत्परिवर्तनों को उत्पन्न करते हैं या आनुवंशिक एवं संरचनात्मक रूप से पृथक DNA खण्ड जो असमजातीय गुणसूत्र में अथवा एक ही गुणसूत्र में एक स्थिति से दूसरे स्थान पर गतिशील होते है, स्थलान्तरणशील आनुवंशिक तत्व (Transposable genetic elements) कहलाते हैं ।

आधुनिक युग में हालांकि स्थलान्तरणशील तत्वों के सम्बन्ध में अधिकांश अनुसंधान कार्य केवल प्रोकेरियोटिक सजीवों में ही किया जा रहा है फिर भी यूकेरियोटिक सजीवों के सन्दर्भ में सर्वप्रथम बारबरा मेक्लिन्टोक (Barbara Mo Clintocks 1950) ने मक्का के इन स्थलान्तरणशील नियन्त्रण तत्वों को प्रदर्शित किया ।

10.2 बोध प्रश्न

नोट : 1. प्रत्येक प्रश्न में छोड़ी गयी जगह का इस्तेमाल अपने उत्तर लिखने के लिए करें ।

2. अपने उत्तर इकाई के अन्त में दिये गये उत्तरों से मिलाऐं ।

प्रश्न 1 रिक्त स्थानों को भरो -

1. रेस्ट्रिक्शन विकर के विदलन स्थल की पहचान..... से होती है ।
2. पुनर्योजन वाहक को पहचानने में ..... जीन मदद करता है ।
3. स्थानांतरेक को.....भी कहते है ।

प्रश्न 2 बहुविकल्पी प्रश्न

निम्न में से सही उत्तर कोष्ठक में लिखे -

1. DNA को संकरण के द्वारा पहचानने वाले DNA खण्ड को क्या कहते है -
   (अ) प्लाज्मिड (ब) यात्री (स) कास्मिड (द) संपरीक्षक
2. रेस्ट्रीशन विकर प्राकृतिक रूप से पाये जाते है -
   (अ) यीस्ट एवं जीवाणु में (ब) यूकेरिओटिक कोशिका में
   (स) जीवाणु में (द) इन सभी में
3. PBR 322 वाहक में किस के प्रति प्रतिरोधक जीन होते है -
   (अ)एम्पीसिलिन (ब)ट्रेट्रासाइक्लिन (स)उपरोक्त दोनों (द)इनमेंसे कोई
4. c-DNA क्या है -
   (अ) क्लोनित DNA (Cloned DNA)
   (ब) हरित लवक (Chloroplast)
   (स) वृत्ताकार DNA (circular DNA)
   (द) RNA रिवर्स ट्रांसक्रिपटेस के द्वारा बनाया गया RNA

प्रश्न 3 निम्नलिखित प्रश्नों का संक्षिप्त में उत्तर दो -

1. ट्रांसपोसोन्स का दूसरा नाम बताइये ।

.....

.....

2. रेस्ट्रिक्शन विकर का उदाहरण दीजिए ।

.....

.....

3. c-DNA में 'c' क्या है?

.....

.....

10.3 सारांश (Summary)

उन्नीसवीं शताब्दी कार्यिकी (Physiology) एवं अणु जैविकी (molecular biology) के क्षेत्र में ज्ञान विस्फोट की साक्षी रही है । आनुवंशिकी पदार्थ DNA की संरचना एवं आनुवांशिक कूट (genetic code) की खोज ने स्पष्ट कर दिया कि सभी जीवों में मूल आनुवंशिकी संरचना व नियंत्रण लगभग एक समान है । इस के साथ ही वैज्ञानिकों ने जीन व विभिन्न लक्षणों के नियंत्रण पर जानकारी एकत्रित करना प्रारम्भ किया तथा नियन्त्रण व हेरफेर करने के अथक प्रयास किये । इक्कीसवीं शताब्दी में जैव तकनीकी के क्षेत्र में अनेक नवीन तकनीकों (Novel techniques) की खोज हुई, जिनमें जीन अभियांत्रिकी (generic engineering) प्रमुख है जो कि बहुत सी जैविक समस्याओं (biological problems) के निदान के लिए रामबाण सिद्ध हुयी है ।

10.4 शब्दावली (Glossary)

1. **एग्रोबैक्टीरियम (Agrobacterium) :** ग्राम-अग्राही (Gram negative) एवं पादप रोगजनक मृदा बैक्टीरिया होते है ।
2. **Ti प्लाज्मिड (Ti Plasmid) :** यह एक संयुग्मी (longugative) लगभग 200,000 न्यूक्लियोटाइड युग्म लम्बा प्लाज्मिड होता है ।
3. **विजातीय (Foreign DNA) :** समावेशित किया जाने वाला DNA
4. **विकर (Enzymes) :** जीन अभियांत्रिकी में DNA के प्रथक्करण (Isolation) समबंधन (splicing) रूपान्तरण (modification) तथा संयोजन (union) के लिए आवश्यक होते है।
5. **एन्डोन्यूक्लिएस (Endonuclease) :** ये विकर DNA को इसके दोनों छोरों (5' तथा 3' छोर) के अतिरिक्त कहीं से भी कट सकते है ।
6. **क्लोननकारी संवाहक (Cloning vehicles)** : किसी जीन को प्राणी के जीनोम में स्थानांतरित (transfer) करने के लिए ऐसे वाहक के साथ जोड़ते है ।

10.5 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Book)

1. Plant Tissue Culture - M.K. Razdan
2. Biotechnology - P.K. Gupta

10.6 बोध प्रश्नों के उत्तर प्रश्न

प्रश्न 1	1.	पेलिन्ड्रोमिक अनुक्रम
	2.	चिन्हक जीन
	3.	जंपिंग जीन
	4.	क्रायोबायोलॉजी
प्रश्न 2	1.	द
	2.	स
	3.	स
	4.	द
प्रश्न 3	1.	जंपिंग जीन
	2.	ECORI
	3.	Complimentary

10.7 अभ्यासार्थ प्रश्न (Execrise Question)

प्रश्न 1 Ti Plasmid के महत्वपूर्ण क्षेत्र कौन से हे?

प्रश्न 2 प्लाज्मिड के अतिरिक्त वाहक कौन से हैं?

प्रश्न 3 ट्रान्सपोजोन्स पर लेख लिखिये?

प्रश्न 4 पुनर्योगिज तकनीक किसे कहते है?

प्रश्न 5 वाहक के साथ बाह्य जीन या DNA को जोड़ने की प्रक्रिया समझायें ।

प्रश्न 6 रिवर्स ट्रान्सक्रिप्टेज को उपयोग किस में किया जाता है ।

इकाई 11

डी.एन.ए. एवं जीनोमिक लाइब्रेरी का निर्माण एवं स्क्रीनिंग, पुनर्योजन डी.एन.ए. तकनीक की उपलब्धियाँ एवं विस्तार क्षेत्र

Construction & Screening of DNA & Genomic Library, Achievements & Extended Area of Recombinant DNA Technique

इकाई की रूपरेखा

11.0 उद्देश्य

11.1 प्रस्तावना

11.2 डी.एन.ए. एवं जीनोमिक लाइब्रेरी

11.2.1 cDNA लाइब्रेरी

11.2.2 जीनोमी लाइब्रेरी

11.2.3 वांछित DNA निवेश का वरण एवं सन्निरीक्षण (Screening)

11.2.4 वांछित DNA का गुणन, अभिव्यक्ति एवं परपोषी जीनोम में समाकलन

11.2.5 पुनर्योजन डी.एन.ए. तकनीक की उपलब्धियाँ एवं विस्तार क्षेत्र

11.3 बोध प्रश्न

11.4 सारांश

11.5 शब्दावली

11.6 संदर्भ ग्रन्थ

11.7 बोध प्रश्नों के उत्तर

11.8 अभ्यासार्थ प्रश्न

11.0 उद्देश्य (Objective)

जीन क्लोनिंग प्रक्रिया के प्रथम चरण में किसी जीव के डी.एन.ए में से उद्देश्य विशेष के लिए विशिष्ट/वांछित जीन/DNA खोजकर, विलगन (Isolation) करने के लिए cDNA तथा जिनोमी लाइब्रेरी का निर्माण किया जाता है । इस पाठ में निम्न बिन्दुओं पर चर्चा की गई है -

1. cDNA लाइब्रेरी
2. जिनोमी लाइब्रेरी
3. वांछित डी.एन.ए. निवेश का वरण

4. सन्निरीक्षण (Screening)
5. पुनर्योजन डी.एन.ए. तकनीक की उपलब्धियाँ एवं विस्तार क्षेत्र

11.1 प्रस्तावना (Introduction)

पुनर्योजी डी.एन.ए. तकनीक (recombinant DNA Technology) की सहायता से की जाने वाली जीन क्लोनिंग (Gene Cloning) की प्रक्रिया में वांछित जीन/डी.एन.ए. खण्ड को विलगन (Isolation) के पश्चात् उचित वाहक में निवेशित करते हैं । इसके पश्चात् इस DNA निवेश्य (DNA Insert) युक्त वाहक को उचित जीव की कोशिकाओं में प्रवेश कराते हैं, जहाँ इसका गुणन (Multiplication) किया जाता है ।

आण्विक जीव विज्ञान में, एक लाइब्रेरी उन अणुओं का संग्रह है, जो एक स्थिर फर्म में है और एक जीव के कुछ पहलू का प्रतिनिधित्व करते हैं । प्रोकेरियोटिक जीवों में, संरचनात्मक जीन जीनोमिक डी.एन.ए. में एक सतत कोडन डोमेन है, जबकि यूकैरियोटिक जीवों में संरचनात्मक जीन के कोन क्षेत्र (Exons), गैर कोडन क्षेत्र (introns) द्वारा अलग होते हैं । अत: प्रोकैरियोटिक एवं यूकैरियोटिक जीनों के लिए भिन्न क्लोनिंग रणनीति का इस्तेमाल किया जाता है । सामान्यतया दो प्रकार की लाइब्रेरी होती है - cDNA लाइब्रेरी एवं जिनोमी लाइब्रेरी ।

एक cDNA लाइब्रेरी, एक विशेष ऊतक में उपस्थित समस्त mRNA का प्रतिनिधित्व करती है, जो एक एन्जाइम रिवर्स ट्रांसक्रिप्टेस के उपयोग द्वारा वापस एक डी.एन.ए. टेम्पलेट में परिवर्तित कर दिया जाता है ।

cDNA लाइब्रेरी रिवर्स आनुवंशिकी में उपयोगी है, लेकिन यह पूरे जिनोम का प्रतिनिधित्व नहीं करके, केवल एक बहुत छोटे भाग (1% से कम), जो प्रतिलिखित (Transcribed) किया जाता है, उसे बताती है ।

एक जिनोमी लाइब्रेरी क्लोनों का एक समुदाय है, जो उस वेक्टर में बन्द है, जो उस जीव के जीनोम के सभी क्षेत्रों का प्रतिनिधित्व करता है । एक जीनोमीय लाइब्रेरी का गठन करने वाले क्लोनों की संख्या (1) जीनोम के आकार (2) विशेष क्लोनिंग वेक्टर प्रणाली द्वारा सहन करने योग्य निवेश आकार पर निर्भर करता है ।

आमतौर पर एक cDNA लाइब्रेरी यूकैरियोटिक जीनोमीय सामग्री के प्रजनन के लिए बनाई जाती है और जीनोमी लाइब्रेरी बैक्टीरिया और वायरस से जीनोमीय लक्ष्य सामग्री के साथ काम करने के लिए बनाई जाती है ।

11.2 डी.एन.ए. एवं जीनोमी लाइब्रेरी (DNA and Genomic Library)

11.2.1 cDNA लाइब्रेरी

cDNA लाइब्रेरी रूपांतरित (transformant) बैक्टीरिया अथवा जीवाणुभोजी (bacteriophage) लायनजों (Lysates) की उस समष्टि (population) को कहते हैं जिसमें किसी जीव से मिले

सभी mDNA cDNA निवेश्यों के रूप में उपस्थित होते हैं । ये cDNA निवेश्य प्लाज्मिडों या फाज वाहकों में होते हैं । इसके निर्माण में निम्नलिखित चरण होते हैं । (i) mRNA विलगन, (ii) cDNA निर्माण, एवं (iii) cDNA का वाहक में समाकलन (integration) ।

(i) mRNA का विलगन -

इसके लिए सर्वप्रथम चुने गए जीव/ऊतक (tissue) से सम्पूर्ण RNA विलगित करते हैं । इस RNA में वांछित mRNA का अंश निम्नलिखित विधियों से बढ़ाया जा सकता है -

(1) पाली-U सेफैरोस या अल्प-T (oligo-T) सेल्यूलोस कॉलम (column) में क्रोमैटोग्राफी । चूँकि mRNA में 3' पाली-A पुच्छ होते हैं, अत: ये अणु कॉलम में ही रूक जाते हैं । इस विधि से RNA प्रतिदर्श (sample) में उपस्थित सभी तरह के mRNA का अंश (content) बढ़ जाता है ।

(2) कुछ mRNA अणुओं की सांद्रता (concentration) घनत्व प्रवणता अपकेंद्रण द्वारा बढ़ाई जा सकती है ।

(3) यदि किसी जीन द्वारा उत्पादित प्रोटीन ज्ञात होता है तो इसे शोधित करके इसके लिए विशेष प्रतिरक्षी (antibody) का उत्पादन किया जाता है । इस प्रतिरक्षी की सहायता से अनुवादन (translation) के समय बने पॉलीसोमो (polysomes) को अवक्षेपण (precipitation) काके विलग एवं शोधित (purify) कर लेते हैं । इन पॉलासोमों में संबंधित mRNA, राइबोसोम एवं नये पॉलिपेप्टाइड (polypeptide) उपस्थित होते हैं, जिनसे mRNA अणुओं को विलग कर लेते हैं । मक्के के जेइन mRNA को इसी विधि से प्राप्त किया था ।

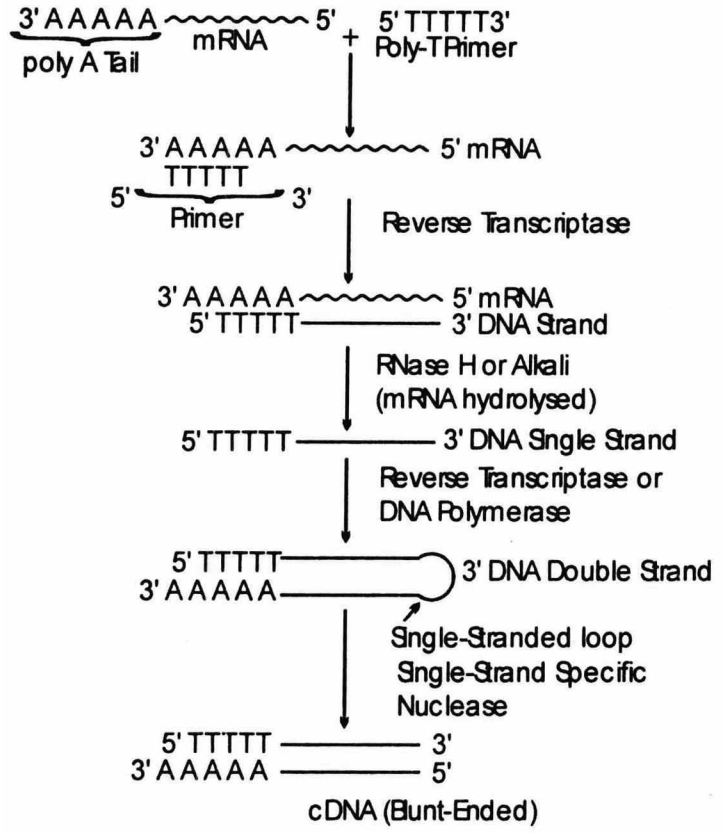
(4) कुछ जीनों की अभिव्यक्ति केवल कुछ विशिष्ट ऊतकों में ही लेकिन उच्च परिमाण में होती है, जैसे - बीज भण्डारण, प्रोटीनों के जीनों की अभिव्यक्ति विकसित हो रहे बीजों में होती है । अत: ऐसे ऊतकों से mDNA प्राप्त करने पर उसमें वांछित mDNA की सान्द्रता असाधारण रूप से ज्यादा होती है ।

(ii) cDNA निर्माण (Production of cDNA)

mRNA अणु को टेम्पलेट (template) के रूप में उपयोग करके उसकी DNA प्रति या पूरक DNA अणु प्राप्त करते हैं, इस DNA को cDNA कहते हैं । इस अभिक्रिया का उत्प्रेरण रिवर्स ट्रांसक्रिप्टेस एन्जाइम द्वारा होता है । इस एन्जाइम की खोज टेमिन एवं बाल्टीमोर (Temin and Baltimore) ने 1970 में की थी । यह एन्जाइम DNA पॉलीमरेस की ही तरह प्रकार्य (Funcation) करता है और इसके लिए भी मुक्त 3'-OH समूह वाला प्राइमर (Primer) बहुत आवश्यक है ।

यूकैरियोटी mRNA में 3' पॉली--A पुच्छ होती है, अत: इनका cDNA बनाते समय पॉली-T ओलिगोन्यूक्लियोटाइड को प्राइमर (primer) के रूप में उपयोग करते हैं किन्तु प्रोकैरियोटी mRNA, rRNA एवं RNA वाइरसों के जिनोमों (genomes) का cDNA बनाने के लिए विशेष तकनीकों की जरूरत होती है, जैसे - (i) पॉली-A पॉलीमरेस एन्जाइम द्वारा इनके 3'

छोर पर पाली-A पुच्छ का निर्माण करते हैं, (ii) यदि वांछित mRNA के 3' छोर का क्षरक क्रम ज्ञात हो तो उसके पूरक ओलिगोन्यूक्लियोटाइड को प्राइमर के रूप में उपयोग करते हैं । उचित ओलिगोन्यूक्लियोटाइड प्राइमर को mRNA से एनील (Anneal) करते है, जिससे यह mRNA के 3' छोर से क्षारक युग्मन करता है । अब रिवर्स ट्रांसक्रिप्टेस इस प्राइमर के 3'-OH का उपयोग करके mRNA के पूरक DNA रज्जुक का संश्लेषण करता है । इससे RNA, DNA संकर अणु (Hybrid molecule) बनते हैं । इन संकर अणुओं के RNA रज्जुक का पाचन RNase या क्षारीय जलअपघटन (alkaline hydrolysis) द्वारा करते हैं । इससे cDNA का एक रज्जुक प्राप्त होता है, जिसके पूरक रज्जुक का संश्लेषण या तो रिवर्स ट्रांसक्रिप्टेस या ई. कोली के DNA पॉलीमरेस I द्वारा करते हैं । इसके लिए किसी प्राइमर की आवश्यकता नहीं होती, क्योंकि cDNA के एकल-रज्जुक के 3' छोर पर स्थित मुक्त -OH समूह ही पूरक रज्जुक के संश्लेषण में प्राइमर का काम करता है । अत: इस तरह उत्पादित cDNA द्विरज्जुक (double-strand) के एक छोर पर एक छोटा केशपिन लूप (hairpin loop) बनता है, जिसे किसी एकल रज्जुक विशिष्ट (single-strand specific) न्यूक्लिएस के द्वारा कर्तित (cut) या विदलित (cleve) करते हैं ।



चित्र : mRNA अणु को टेम्प्लेट (template) के रूप में उपयोग करके उसके cDNA को उत्पादन cDNA के निर्माण मे समस्याएँ

एक शु (mRNA से शुरू करने पर भी अंत में जो cDNA प्राप्त होता है उसमें कई भिन्न-भिन्न लम्बाई वाले अणु पाए जाते हैं इनमें ज्यादातर अणु टेम्पलेट mRNA अणु की अपेक्षा छोटे होते हैं, जिसके निम्न कारण हो सकते है -

1. रिवर्स ट्रांसक्रिप्टेस द्वारा mRNA अणु का अपूर्ण व्युत्क्रम अनुलेखन जिससे mRNA का 5' छोर cDNA में अनुपस्थित होता है ।
2. cDNA एक-रज्जुक की अपूर्ण प्रतिकृति (replication) जिससे cDNA अणु में mRNA का 3' छोर अनुपस्थित होता है ।
3. केश-पिन लूप के विदलन के लिए उपयोग किए गए न्यूक्लिएस द्वारा cDNA के द्विरज्जुक के छोरों का आशिक पाचन इन परेशानियों को दूर करने के लिए विशिष्ट युक्तियों का विकास किया गया है । उदाहरण - (i) mRNA के अपूर्ण व्युत्क्रम अनुलेखन आदि को रोकने के लिए mRNA अणुओं को एक विशेष रूप से डिजाइन किए गए ई. कोलाई के वाहक (vector) में जो दिया जाता है, और cDNA बनाने की सम्पूर्ण प्रक्रिया इस वाहक के माध्यम से ही की जाती है । (ii) केशपिन लूप के विदलन के लिए उपयोग किए गए न्यूक्लिएस द्वारा cDNA अणुओं के छोरों को कुतरे जाने से बचाने के लिए निम्नलिखित तरीका अपनाते हैं । cDNA एक-रज्जुक के 3' छोर पर एक पाली-A, पॉली-T या पाली-C गुच्छ जोड़ देते हैं इस पुच्छ के पूरक ओलिगोन्यूक्लियोटाइड को प्राइमर के रूप में उपयोग करके इसके पूरक रज्जुक का संश्लेषण करते है । इस विधि को PCR (पॉलीमरेस श्रृंखला अभिक्रिया के साथ जोड़ देने पर cDNA अणु की बहुत-सी प्रतियाँ प्राप्त होती हैं ।

   व्यावहारिक स्थितियों में cDNA विरचन हमेशा ही कई अलग तरह के अणुओं के मिश्रण होते हैं । इसके दो प्रमुख कारण निम्नलिखित हैं - (i) mRNA विरचनों का पूर्ण शु(न होना, (ii) mRNA अणुओं की cDNA प्रति उत्पादन में होने वाली समस्याएँ । अत: क्लोनन के लिए मिश्रित cDNA का ही उपयोग किया जाता है, और वांछित cDNA का विलगन एवं शोधन बैक्टीरिया के उचित क्लोन से करते हैं ।

cDNA की उपयोगिता

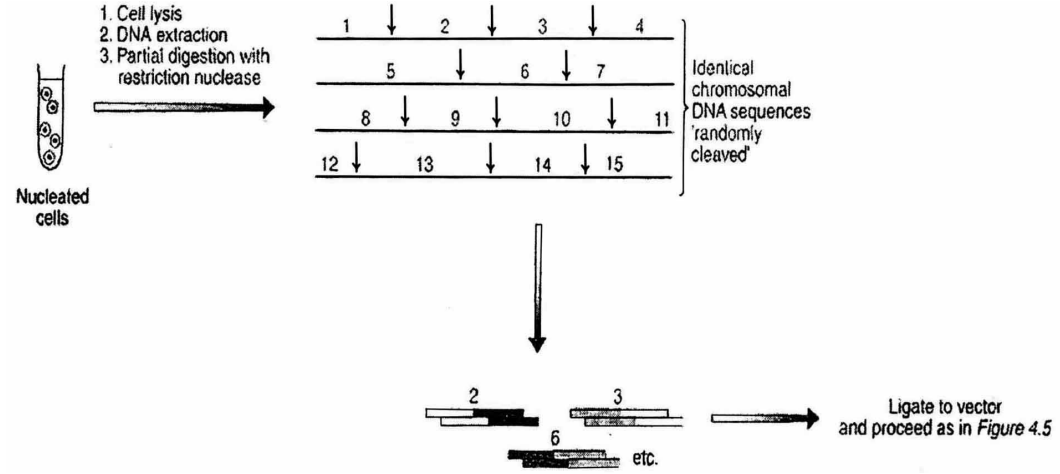
यूकैरियोटी जीनों में इंट्रॉनों को mRNA परिपक्वन (maturation) के समय निष्कासित (remove) कर दिए जाते हैं । प्रोकैरियोटों में mRNA में से इंट्रॉन निष्कासन की व्यवस्था अनुपस्थित होती है । अत: जब भी यूकैरियोटी जीनों की अभिव्यक्ति किसी प्रोकैरियोट जैसे - बैक्टीरिया, में करनी होती है तब इन जीनों की cDNA प्रतियों का उपयोग जरूरी होता है । इंटरफेरान (interferon), रूधिर स्कंदन कारक VIIIC एवं अन्य कई mRNA की cDNA प्रतियों का क्लोनन एवं अभिव्यक्ति बैक्टीरिया में की गई है ।

11.2.2 जिनोमी लाइब्रेरी (Genomic Library)

जिनोमी लाइब्रेरी सही में प्लाज्मिड क्लोनों या फाज लायनजों (lysates) का एक संग्रह होता है, जिसमें DNA निवेश्यों (DNA inserts) के रूप में उपस्थित भिन्न-भिन्न DNA खंडों का सम्पूर्ण योग सम्बन्धित जीव के पूरे जिनोम का प्रतिनिधित्व करता है । बहुधा जिनोमी लाइब्रेरियों में कुछ खण्ड प्राकृतिक स्थिति की तुलना में काफी कम आवृत्ति (frequency) में उपस्थित हो सकते है, अथवा अनुपस्थित भी हो सकते हैं । इसके संभावित कारण निम्नलिखित हो सकते हैं - (i) कुछ खंडों द्वारा अविषालु (toxoc) उत्पादों (प्रोटीनों) का कोडन, (ii) धीमी प्रतिकृति दर (replication rate), (iii) पुनर्योजन (recombination) के कारण परिवर्तित खण्डों का उत्पादन, अथवा (iv) प्रतिबन्ध एन्जाइमों द्वारा आंशिक पाचन में इन खण्डों का क्लोनन के लिए सही आमाप (size) का न बन पाना ।

जिनोमी लाइब्रेरी का निर्माण

इसके लिए सम्बन्धित जीव का सम्पूर्ण जिनोमी DNA निष्कर्षित किया जाता है । इस DNA को (i) यांत्रिक, (ii) ध्वनिक (sonic) या एन्जाइमी (प्रतिबन्ध एन्जाइम) विधियों से उचित आमाप के खण्डों में कर्तित (cut) कर लेते हैं । प्रतिबन्ध एन्जाइमों द्वारा केवल आंशिक पाचन किया जाता है । इस काम के लिए 4bp के अभिज्ञान स्थलों वाले एन्जाइमों का उपयोग ज्यादा लाभदायक होता है, क्योंकि इन एन्जाइमों द्वारा आंशिक पाचन (partial digesting) से प्राप्त खण्डों के उचित आमाप का होने की सबसे ज्यादा सम्भावना होती है । ज्यादातर AluI (AG/CT), Hae II (GG/CC) तथा Sau 3A (/GATE) के अकेले या मिश्रित पाचनों (digests) का जिनोमी लाइब्रेरी बनाने के लिए उपयोग किया गया है । जिनोमी लाइब्रेरी निर्माण के लिए प्रतिबन्ध एन्जाइमों के उपयोग के निम्नलिखित लाभ हैं - (i) एक ही एन्जाइम का उपयोग करने पर प्रत्येक बार वही DNA खण्ड प्राप्त होंगे, और (ii) इन DNA खण्डों के छोर ससंजक (cohesive) होते हैं ।



चित्र : Making a genomic DNA library

जिनोमी DNA से प्राप्त खण्डों के मिश्रण का ऐगरोस जेल इलेक्ट्रोफोरेसिस (agarose gel electrophoresis) या सुक्रोस प्रवणता उपकेन्द्रण करते हैं, और इस तरह उचित आमाप (size) के खण्डों को क्लोनन के लिए विलग कर लेते हैं । इन खंडों को किसी उचित वाहक (vector) में समाकलित करके क्लोन करते हैं । इस विधि को शॉट गन विधि (shot gun approach) कहते हैं । जिनोमी लाइब्रेरी निर्माण में λ वाहकों एवं कास्मिडों (cosmids) का विस्तृत उपयोग हुआ है । इसका प्रमुख कारण इन वाहकों में 23-25 kb आमाप के खण्डों को सुविधापूर्वक क्लोन किया जा सकता है । DNA निवेश्यों सहित वाहकों को उचित बैक्टीरिया परपोषी (host) में क्लोन करते हैं ।

जिनोमी लाइब्रेरी में कुल क्लोनों की संख्या मुख्य रूप से निम्न दो बातों पर निर्भर होगी - जिनोम की जटिलता एवं DNA निवेश्य का आमाप । निवेश्य आमाप 20kb एवं जिनोम के सभी खण्डों के उपस्थित होने की प्राथमिकता (probability) 99% होने पर ई. कोलाई के जिनोमी लाइब्रेरी का आमाप 1,157 क्लोन, खमीर (yeast) के लिए 3,462 क्लोन, ड्रोसोफिला (Drosophila) के लिए 38,000 क्लोन एवं मानव के लिए 6,90,819 क्लोन होगा ।

11.2.3 वांछित DNA निवेश का वरण (Selection) एवं सन्निरीक्षण (Screening)

वांछित DNA निवेश (insert) वाले क्लोन/प्लाक का वरण

शुरू में क्लोन किये जाने वाले DNA खण्ड वास्तव में कई अलग तरह के खण्डों के मिश्रण होते हैं, विशेष रूप से जब cDNA विरचनों (preparation) या जिनोमी (genomic) DNA खण्डों को क्लोन किया जता है । अत: पुनर्योगज वाहक-युक्त विभिन्न क्लोनों/प्लाकों में भिन्न-भिन्न DNA निवेश्य हो सकते हैं । अत: इन क्लोनों के वरण के पश्चात् अगला चरण वांछित DNA निवेश्य वाले क्लोन/प्लाक की पहचान या वरण (Selection) है।

कालोनी संकरण (Colony Hybridization)

इस विधि में परीक्षण की जाने वाली प्लेट की कॉलोनियों को या तो नाइट्रोसेल्युलोस फिल्डर पर रेप्लिका-प्लेट करते हैं, या उन्हें सीधे इस फिल्टर पर उठा लेते हैं । बैक्टीरियाई कोशिकाओं का फिल्डर पर लयन करके उनके DNA को विगुणित (denature) करते हैं । फिर इनका संकरण एक ऐसे रेडियोधर्मी (radioactive) अन्वेषक (probe) से करते हैं जो वांछित DNA निवेश्य के लिए विशिष्ट हो । अन्वेषक से संकरण करने वाली कॉलोनियों को ऑटोरेडियोग्राफी (autoradiography) द्वारा ज्ञात करते हैं, फिर उन्हें मास्टर प्लेट से प्राप्त कर लेते हैं ।

यह विधि बहुत ही दक्ष एवं बड़ी संख्या में कॉलोनियों का परीक्षण कर सकती है । एक 10 cm व्यास के फिल्टर पर 10,000 तक कॉलोनियों को उठा सकते हैं । किन्तु इसके लिए DNA निवेश्य के लिए विशिष्ट अन्वेषक का प्राप्त होना जरूरी है । अन्वेषक (probe) 20-30 क्षारक लंबे RNA/DNA अणु होते हैं, जिनका क्षारक क्रम उस DNA खण्ड के किसी भाग का पूरक क्रम होता है जिसकी उन्हें खोज करनी होती है । अन्वेषक हमेशा चिन्हित (labelled) होते है । अक्सर ये ^{32}p से रेडियो-चिन्हित (radio labelled) होते हैं ।

संकर रुद्ध अनूदन (Hybrid Arrested Translation) : इस विधि में सबसे पहले एक ऐसे स्रोत से mRNA विरचन (preparation) प्राप्त करते हैं जहां वांछित जीन सामान्यतया अभिव्यक्त होता है । इस mRNA विरचन के एक अंश के पात्रे अनूदन से प्राप्त प्रोटीनों के एलेक्ट्रोफोरेसीय पैटर्न को संदर्भ के लिए उपयोग करते हैं । शेष बचे mRNA विरचन को कई भागों या प्रतिदर्शो (Samples) में विभाजित कर देते हैं, और प्रत्येक प्रतिदर्श में एक भिन्न क्लोन/प्लाक से प्राप्त पुनर्योगज वाहक (recombinant vector) को विगुणित (denature) करके मिलाते हैं । अब mRNA एवं DNA रज्जुको में एनीलन (annealing) होने देते हैं । एनीलन के पश्चात mRNA मिश्रण का पात्रे अनूदन करके उत्पादित प्रोटीनों की एलेक्ट्रोफोरेसिस करते हैं । किसी भी पुनर्योगज वाह में उपस्थित DNA निवेश्य (insert) अपने पूरक mRNA में एनील करेगा । अत: इस mRNA का अनूदन नहीं हो सकेगा । जिस भी mRNA प्रतिदर्श (sample) में वांछित प्रोटीन का उत्पादन नहीं हो पाता उसमें मिलाये गये पुनर्योगज वाहक में उस प्रोटीन को उत्पादित करने वाला परम निवेश्य उपस्थित होगा ।

संकर वरण (Hybrid Selection)

इस विधि में विभिन्न पुनर्योगज वाहकों को विगुणन (denaturation) के पश्चात् किसी ठोस आधार, जैसे - नाइट्रोसेल्युलोस फिल्टर, से स्थिर या निबंधित (fix) कर देते हैं । इन फिल्टरों को एक ऐसे mRNA विरचन, जिसमें वांछित mRNA भी उपस्थित होता है, में डालकर एनीलन होने देते हैं । प्रत्येक फिल्टर से निबन्धित DNA निवेश्य से उसका पूरक mRNA एनील करेगा । अब प्रत्येक फिल्टर को बाहर निकालकर उससे आब) mRNA को अलग-अलग प्राप्त करके पात्रे अनूदन करते हैं, और उससे उत्पादित प्रोटीन की इलेक्ट्रोफोरेसीय गतिशीलता (Electrophoretic mobility) ज्ञात करते हैं । प्रत्येक फिल्टर से प्राप्त mRNA केवल एक तरह का प्रोटीन उत्पादन करेगा । अत: जिस फिल्टर से प्राप्त mRNA के अनूदन से सम्बन्धित प्रोटीन प्राप्त होता है, उससे निबंधित युनर्योगज वाहक में उस प्रोटीन को कोडित करने वाला DNA निवेश्य उपस्थित है।

वांछित प्रोटीन की पहचान इस प्रोटीन के लिए विशेष प्रतिरक्षी (antibody) द्वारा भी की जा सकती है । प्रतिरक्षी का उपयोग वेस्टर्न ब्लॉटिंग तकनीक में करते हैं अथवा प्रतिरक्षी का उपयोग अनूदन से प्राप्त प्रोटीनों के मिश्रण से वांछित प्रोटीन को अवक्षेपित (precipitate) करके विलग करने के लिए करते हैं । इसके पश्चात् प्रोटीन को दोबारा विलीन (dissolve) करके इसका उपयोग इलेक्ट्रोफोरेसिस द्वारा संपुष्टि के लिए कर सकते हैं ।

पूरकीकरण (Complementation)

यदि क्लोनित (Cloned) DNA खंड परपोषी कोशिकाओं में अभिव्यक्त (express) होता है तो वह कोई ऐसा प्रोटीन उत्पादित कर सकता है, जैसे - प्रोटीन A, जिसका परपोषी कोशिकाओं में उत्पादन त्रुटिपूर्ण है । ये A- परपोषी कोशिकाएँ केवल उसी स्थिति में वर्धन कर सकती है जबकि उन्हें प्रोटीन A का प्रकार्य किसी अन्य स्रोत से प्राप्त हो । ऐसी परपोषी कोशिकाओं में जब प्रोटीन A उत्पादित करने वाला परम खंड क्लोन किया जायेगा तो इन कोशिकाओं में प्रोटीन

A का उत्पादन होगा और ये वर्णनात्मक स्थितियों (selective conditions) में भी वर्धन कर सकेंगी । इसे पूरकीकरण करते हैं । अत: इन A^- कोशिकाओं में क्लोन करके DNA निवेश्यों के मिश्रण में से ऐसे DNA खंड का आसानी से वरण किया जा सकता है जो कि प्रोटीन A का उत्पादन करता हो । स्पष्ट रूप से, यह तरीका उचित परपोषी विभेदों की उपलब्धता के कारण सीमित है ।

अद्‌वितीय जीन उत्पाद (Unique Gene Product)

यदि DNA निवेश्य कोई ऐसा प्रोटीन उत्पादित करे जो कि परपोषी कोशिकाओं द्‌वारा उत्पादित नहीं किया जाता तो इस प्रोटीन की उपस्थिति से संबंधित DNA निवेश्य को पहचाना जा सकता है । इस प्रोटीन के अद्‌वितीय प्रकार्य (function) एन्जाइमी या हार्मोन संबंधी हो सकते हैं, किन्तु इनके परीक्षण की दक्ष विधि प्राप्त होनी चाहिए ।

प्रोटीन उत्पाद विशिष्ट प्रतिरक्षी (Antibodies Specific to the Protein Product)

यदि किसी जीन द्‌वारा उत्पादित प्रोटीन के लिए प्रतिरक्षी (antibody) प्राप्त हो तो इस प्रतिरक्षी की सहायता से इस प्रोटीन का उत्पादन करने वाले क्लोन की पहचान की जा सकती है । ऐसा करने की निम्नलिखित विधियाँ हैं - वेस्टर्न ब्लॉटिंग, अवक्षेपण (precipitation), एलेक्ट्रोफोरेसिस एवं ELISA.

प्रतिरक्षी द्‌वारा कालोनी/प्लाक सन्निरीक्षण (Screening)

इसके लिए निम्नलिखित जरूरी है - (i) DNA निवेश्य की अभिव्यक्ति, (ii) निवेश्य (insert) द्‌वारा उत्पादित प्रोटीन का अद्‌वितीय होना, तथा (iii) इस प्रोटीन के दो भिन्न डोमेनों (domains) के लिए दो भिन्न प्रतिरक्षी । इनमें से एक प्रतिरक्षी को एक ठोस आधार, जैसे - कागज या प्लास्टिक डिस्क (disc) की संपूर्ण सतह पर निबंधित (fix) करते हैं । इस डिस्क को ऐसी एगार प्लेक की एगार परत पर रखते हैं, जिसमें या तो फाज प्लाक (plaque) हों या फिर बैक्टीरिया की लयनित (lysed) कालोनियाँ हों । यदि किसी प्लाक/कालोनी में यह प्रोटीन उत्पादित हो रहा होगा तो वह प्रतिरक्षी से आब) होगा । इस डिस्क को प्लेट में से हटाने के पश्चात् उसे इस प्रोटीन के लिए विशिष्ट दूसरे प्रतिरक्षी से उपचारित करते हैं, यह प्रतिरक्षी साधारणतया रेडियो-चिन्हित होता है । यह प्रतिरक्षी भी प्रोटीन अणुओं से आब) होगा । डिस्क में रेडियोधर्मी स्थलों को ऑटोरेडियोग्राफी द्‌वारा ज्ञात करते हैं, ये स्थल प्लेट में इन प्लाकों/कॉलोनियों के स्थल हैं जो कि वांछित प्रोटीन का उत्पादन कर रहे हैं । अब इनको मास्टर प्लेट से प्राप्त कर लेते हैं ।

यह विधि कालोनी संकरण की तरह है, और इससे बड़ी संख्या में कालोनियां/प्लाकों का परीक्षण कर सकते हैं ।

फैक्स (FACS)

रूपांतरित जंतु कोशिकाओं को एक स्वचालित यंत्र, FACS (प्रतिदीप्ति सक्रियित कोशिका छांट-यंत्र) की सहायता से बहुत जल्दी छांट सकते हैं । ऐसा करने के लिए निम्न का होना जरूरी है - (i) सम्बन्धित प्रोटीन केवल DNA निवेश्य द्‌वारा उत्पादित हो और परपोषी कोशिकाओं द्‌वारा

उत्पादित न किया जाता हो, (ii) यह प्रोटीन परपोषी कोशिकाओं की सतह पर प्रतिरक्षी से आबंद्धन के लिए प्राप्त हो, तथा (iii) इसके लिए विशिष्ट प्रतिरक्षी प्राप्त हो । इस प्रतिरक्षी से कोई प्रतिदीप्तिशील (fluorescent) अणु संलग्न (attach) कर देते हैं, फिर रूपांतरित कोशिकाओं को इससे उपचारित करते हैं । ये प्रतिरक्षी अणु केवल उन्हीं कोशिकाओं से संलग्न होंगे जिनकी सतह पर संबंधित प्रोटीन उपस्थित होगा । इन कोशिकाओं को अब एक-एक करके एक लेसर (laser) एवं एक प्रतिदीप्ति संसूचक (fluorescence detector) के बीच से गुजारते हैं । जो कोशिकाएं प्रतिदीप्त (fluorescent) होती हैं वे एक सूक्ष्म कल्चर ट्रे (micro culture tray) में छांट ली जाती हैं जबकि अप्रतिदीप्त (non- fluorescent) कोशिकाएं त्याग दी जाती हैं । यह टंटाई FACS मशीन द्वारा स्वचालित तरीके से की जाती है ।

11.2.4 वांछित DNA का गुणन, अभिव्यक्ति एवं परपोषी जीनोम में समाकलन

वांछित DNA खंड वाले क्लोन/प्लाक की पहचान के पश्चात् इसका ई. कोलाई में गुणन किया जाता है । इस तरह प्राप्त DNA खंड की बहुसंख्य प्रतियों का निम्न उपयोग किया जा सकता है।

1. बै. सब्टिलिस जैसे - किसी बैक्टीरिया में प्रवेश (introduction) तथा उसके द्वारा उत्पादित प्रोटीन की बड़े पैमाने पर प्राप्ति ।
2. खमीर, जंतु या पादप कोशिकाओं के जिनोमों में समाकलन (integration) जिससे विविध उद्देश्यों की पूर्ति हो सके ।
3. DNA खंड का संरचनात्मक (Structural) विश्लेषण, जैसे - DNA अनुक्रमण (Sequencing), क्रोमोसोम-गमन (chromosome walking) आदि ।
4. किसी यूकैरियोटी कोशिका, जैसे - खमीर, जंतु या पादप कोशिका, में प्रवेश एवं उसके प्रकार्य का अध्ययन ।

11.2.5 पुनर्योजन डी.एन.ए. तकनीक की उपलब्धियाँ एवं विस्तार क्षेत्र -

डी.एन.ए. तकनीक ने बुनियादी अनुसंधान और व्यवसायिक अनुप्रयोगों के लिए जीन क्लोन करना संभव कर दिया है । इस तकनीक ने मेडिसन एवं फार्मास्यूटिकल उद्योगों को नए आयाम दिए हैं इसके साथ ही डी.एन.ए. तकनीक फॉरेन्सिक, पर्यावरण व कृषि अनुप्रयोगों में महत्वपूर्ण भूमिका प्रदान कर रहा है । डी.एन.ए. तकनीक के अन्य विस्तार क्षेत्र भी हैं -

1. हमारे शरीर में जो जैव-रासायनिक पदार्थ बनते हैं, उनका निर्माण जीन करते हैं । यह जानने के लिए कि किस पदार्थ के निर्माण में किस प्रकार की जीन का हाथ है, संश्लेषित जीनों से इस प्रकार के बहुत से प्रयोग किये जा रहे हैं ।
2. फलीदार पौधों (leguminous plants) की जडों में राइजोबियम लेग्यूमिइनोसेरम (Rhizobium liguminosarum) नामक बैक्टीरिया पाये जाते हैं जो नाइट्रोजन स्थिरीकरण (nitrogen fixation) में सहायक होते हैं । आनुवंशिकी अभियांत्रिक द्वारा अफलीय (non-

-liguminous) पौधे में नाइट्रोजन स्थिरीकरण (nitrogen fixation) में सहायक जीनों को प्रत्यारोपित किया गया है ताकि उनमें भी यह क्रिया हो सके ।

3. कैंसर अनुसंधान में इसका सीधा ही प्रयोग किया जा सकता है । यह ज्ञात करने में प्रमुख शोध हुआ है कि रासायनिक पदार्थ किस तरह कैंसर पैदा करता है । कैंसर जनक रासायनिक पदार्थ कोशिकाओं में परिवर्तन करके उन्हें दुर्गम बना देते हैं क्योंकि वे प्रभावित कोशिकाओं के डी.एन.ए. के कुछ अंशों को किन्हीं रूपों में परिवर्तन कर देते हैं । इन प्रभावों का पता लगाया जा सकता है और प्रभावित डी.एन.ए. कम की खोज की जा सकती है ।
4. जब वाइरस आक्रमण करते हैं तो स्तनधारियों (mammls) के ऊतक, इन्टरफेरोन (interferon) जो कि प्रतिविषाणुक कारक (antiviral agent) हैं, का स्रावण करते हैं । अभी कुछ वर्षों तक वाइरस रोगों से पीड़ित मनुष्यों के इलाज के लिए पर्याप्त मात्रा में इन्टरफेरोन (interferon) का निर्माण सम्भव नहीं हो सका था । लेकिन हाल ही के कुछ वर्षों में आण्विक आनुवंशिकी के वैज्ञानिकों ने इन्टरफेरोन बनाने वाली जीन का एशारिशिआ कोलाई (Escherichia coli) में समावेश कर प्रयोगशाला में इन्टरफेरोन बनाने में सफलता प्राप्त कर ली है ।
5. संश्लेषित जीनों की मदद से ही हम आनुवंशिकी के रहस्यों के बारे में ज्ञान प्राप्त कर सकते हैं । ये ही वे युक्तियाँ हैं जिनसे हम यह मालूम कर सकते हैं कि हमारे शरीर पर विभिन्न रसायनों, औषधियों, वैक्सीनों आदि के क्या प्रभाव पड़ते हैं ।

11.3 बोध प्रश्न

प्रश्न I निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर दो -

रिक्त स्थान भरो

1. cDNA अणु सिर्फ.....से बनाए जाते हैं ।
2. वांछित genome के लाइब्रेरी क्लोन को पहचानने के लिए.....का उपयोग करते हैं ।
3. रिवर्स ट्रांसक्रिप्टेस सामान्यतया.....में पाया जाता है ।

प्रश्न II बहुविकल्पी प्रश्न-

1. एक cDNA लाइब्रेरी बनाने के लिए निम्न में से किसकी आवश्यकता नहीं है -
   a) mRNA
   b) restriction enzyme
   c) DNA polymerase I
   d) reverse transcriptase
2. निम्न में से कौनसा एन्जाइम, RNA टेम्पलेट से DNA संश्लेषण करता है -
   a) डी.एन.ए. पॉलिमरेज I
   b) डी.एन.ए. लाइगेज
   c) RNase H

d) रिवर्स ट्रांसक्रिप्टेस

3. निम्न में से कौनसा कथन असत्य है -

a) जिनोमी लाइब्रेरी कोडन एवं गैर कोडन अनुक्रम रखती है ।

b)cDna लाइब्रेरी सिर्फ कोडन अनुक्रम रखती है ।

c) लाइब्रेरी जीवों के लिए विशिष्ट होती हैं तथा सभी कोशिका प्रकार प्रदर्शित करती है ।

d) लाइब्रेरी एक विशेष जीन के क्लोन की पहचान करने के काम आती है ।

प्रश्न III लघुउत्तरीय प्रश्न

1. पुनर्योज DNA अणु क्या है?

.....

2. cDNA लाइब्रेरी की परिभाषा दीजिये ।

.....

3. FACS क्या है?

.....

11.4सारांश (Summary)

डी.एन.ए. (DNA library) में DNA अणु में उपस्थित सूचनाओं का संग्रह किया जाता है । और इनका डी.एन.ए. Sequencing एवं जीन क्लोनिंग में उपयोग किया जता है । दो प्रकार की DNA library बनाई जाती है । cDNA लाइब्रेरी एवं जिनोमी लाइब्रेरी । cDNA लाइब्रेरी mRNA से तथा जिनोमी लाइब्रेरी DNA से बनाई जाती है ।

वांछित DNA निवेश्य वाले क्लोन के वरण (Selection) के लिए कालोनी संकरण, संकर वरण, पूरकीकरण अद्‌वितीय जीन उत्पाद, प्रोटीन उत्पाद, विशिष्ट प्रतिरक्षी, प्रतिरक्षी द्‌वारा कालोनी सन्निरीक्षण एवं फैक्स का प्रयोग किया जाता है ।

11.5 शब्दावली (Glossary)

1. **पूरक डी.एन.ए. (Complementary DNA) -** वह DNA जो प्रयोगशाला में mRNA टेम्पलेट से संश्लेषित किया जाता है ।
2. **जीनोमी लाइब्रेरी (Genomic Library) -** क्लोन्स का वह संग्रह जो अनियमित उत्पन्न अतिव्यापी DNA टुकड़े के एक सेट से बना है तथा एक जीव की संपूर्ण जीनोम का प्रतिनिधित्व करता हो ।
3. **जीन (Gene) -** आनुवंशिकता की मूलभूत भौतिक एवं कार्यात्मक इकाई ।
4. **लाइब्रेरी (Library) -** क्लोन का एक unordered संग्रह जिनका एक-दूसरे से संबंध भौतिक मानचित्रण द्‌वारा स्थापित किया जा सकता है ।
5. **गैर कोडन क्षेत्र (Intron) -** डी.एन.ए. अनुक्रम जो एक Gene के प्रोटीन-कोडन अनुक्रम को बाधित करता है ।

6. **कोडन क्षेत्र (Exon) -** एक जीन में उपस्थित प्रोटीन-कोडन डी.एन.ए. अनुक्रम ।
7. **प्रोब (probe) -** रेडियोएक्टिव या Immunologically लेबल विशिष्ट क्षारक अनुक्रम के single-stranded DNA या RNA अणु जो संकरण द्वारा cDNA अनुक्रम खोजने में काम लिए जाते हैं।
8. **रिवर्स ट्रांसक्रिप्टेस (Reverse Transcriptase) -** रिट्रोवाइरस द्वारा उपयोग किया जाने वाला एंजाइम जो उनके RNA से cDNA अनुक्रम बनाता है ।
9. **संकरण (Hybridization)** - DNA के दो पूरक अणुओं को जोड़कर एक double stranded अणु बनाने की प्रक्रिया ।
10. **पुनर्योज डी.एन.ए. तकनीक (Recombinant DNA technology)** जीव या कोशिका के बाह्य वातावरण में डी.एन.ए. टुकड़ों को जोड़ने की प्रक्रिया ।

11.6 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Books)

1. आनुवंशिकी एवं जैव तकनीकी - पी.एल. पारीख, विष्णुदत्ता भट्टमेवाड़ा
2. बायोटेक्नोलॉजी - डा. एस.एस. पुरोहित, सुश्री महेन्द्र जीत असीजा
3. Elements of Biotechnology - पी.के. गुप्ता
4. A Textbook of Biotechnology - आर.सी. दुबे

11.7 बोध प्रश्नों के उत्तर प्रश्न

प्रश्न I 1. mRNA
2. Complementation
3. रिट्रोवायरस

प्रश्न II 1. b
2. d
3. c

प्रश्न III 1. साधारणतया भिन्न-भिन्न जीवों से प्राप्त दो या ज्यादा पृथक DNAअणुओं को आपस में जोड़कर बनाया गया अणु पुनर्योज DNA कहलाता है ।
2. cDNA लाइब्रेरी रूपान्तरित जीवाणु अथवा जीवाणुभोजी लायनजों की उस समष्टि (population) को कहते हैं, जिसमें किसी जीव से प्राप्त सभी संदेशवाहक RNA (mRNA) cDNA के रूप में उपस्थित होते हैं।
3. FACS (Fluorescenes activated cell sorting) (प्रतिदीप्ति सक्रियत कोशिका छांट यंत्र है जो रूपांतरित कोशिकाओं को स्वचालित तरीके से छांट सकता है ।

11.7 अभ्यासार्थ प्रश्न (Exercise Question)

1. जिनोमी लाइब्रेरी बनाने की विधि का वर्णन कीजिये तथा इसमें से वांछित DNA खंड प्राप्त करने की युक्तियों की विवेचना कीजिये ।
2. cDNA की परिभाषा दीजिये । cDNA लाइब्रेरी बनाने की विधि का वर्णन कीजिये । cDNA प्राप्त करने में होने वाली समस्याओं एवं उनके निवारण का संक्षिप्त वर्णन कीजिये ।
3. वांछित DNA खण्ड युक्त क्लोनों की पहचान की विभिन्न विधियों का संक्षिप्त वर्णन कीजिये।
4. निम्न पर संक्षिप्त टिप्पणियाँ लिखिये -
   (1) Colony Hybridization
   (2) FACS
   (3) Complementation
   (4) cDNA लाइब्रेरी एवं जिनोमी लाइब्रेरी में विभेद कीजिये ।

इकाई 12

ट्रांसजैनिक पादप एवं फल सुधार

(Transgenic Plant and Crop Improvement)

इकाई की रूपरेखा

12.0 उद्देश्य

12.1 प्रस्तावना

12.2 ट्रांसजैनिक पादप एवं फसल झार

- 12.2.1 खरपतवारनाशक विरोधी पादपों का निर्माण
- 12.2.2 कीट प्रतिरोधी पादपों का निर्माण
- 12.2.3 वाइरस संक्रमण प्रतिरोधी पादपों का निर्माण
- 12.2.4 कवक संक्रमण प्रतिरोधी पादपों का निर्माण
- 12.2.5 जैव रसायनों का उत्पादन
- 12.2.6 पादपों द्वारा टीकों का उत्पादन
- 12.2.7 नर बंध्यों पौधों की प्राप्ति
- 12.2.8 बीज प्रोटीन गुणवत्ता में सुधार
- 12.2.9 पौधों में N_2 स्थिरीकरण की क्षमता को बढ़ाना

12.3 बोध प्रश्न

12.4 सारांश

12.5 शब्दावली

12.6 संदर्भ ग्रन्थ

12.7 बोध प्रश्नों के उत्तर

12.8 अभ्यासार्थ प्रश्न

12.0 उद्देश्य (Objective)

जीन अभियांत्रिकी (Genetic Engineering) की सहायता से ट्रांसजैनिक पादप बनाए जाते हैं । इन पादपों की फसल सुधार करने में महत्वपूर्ण भूमिका है । इसी संदर्भ में पाठ में निम्न बिंदुओं पर चर्चा की गयी है -

1. खरपतवारनाशक विरोधी पादपों का निर्माण
2. कीट प्रतिरोधी पादपों का निर्माण
3. वाइरस संक्रमण प्रतिरोधी पादपों का निर्माण
4. कवक संक्रमण प्रतिरोधी पादपों का निर्माण
5. जैव रसायनों का उत्पादन

6. पादपों द्वारा टीकों का उत्पादन
7. नर बंध्यों पौधों की प्राप्ति
8. बीज प्रोटीन गुणवत्ता में सुधार
9. पौधों में N_2 स्थिरीकरण की क्षमता को बढ़ाना

12.1 प्रस्तावना (Introduction)

ट्रांसजैनिक पादप (Transgenic Plants) : जीन अभियांत्रिकी द्वारा किसी भी जीव से अलग किए वांछित जीन को किसी भी पादप जाति में स्थानान्तरित किया जा सकता है । वे पादप जिनमें वांछित लक्षण के लिए इतर DNA उपस्थित होता है, ट्रांसजैनिक पादप कहलाता है ।

उच्चवर्गीय पादपों में वांछित लक्षण उत्पन्न करने के लिए विभिन्न जीन्स को निवेशित करने के पश्चात निवेशित जीन द्वारा उत्पन्न लक्षणों तथा उनकी अभिव्यक्ति को अवलोकित किया जाता है । उदाहरणतः यदि किसी पादप में N_2 स्थिरीकरण के लिए वांछित जीन निवेशित करवाया जाता है तब उस पादप में N_2,स्थिरीकरण होने लगता है । यदि किसी पादप में रोगप्रतिरोधक क्षमता उत्पन्न करने के लिए किसी रोगप्रतिरोधक जीन को निवेशित करवाया जाता है, तब यह पादप उस विशिष्ट रोग के प्रति प्रतिरोधी हो जायेगा ।

सन् 1980 तक केवल एक ही द्विबीजपत्रियों के ट्रांसजैनिक पादपों का निर्माण संभव हो पाया था क्योंकि उस समय जीन स्थानान्तरण केवल एक विधि अर्थात् एग्रोबैक्टीरियम ट्यूमीफेशियन्स के माध्यम से ही संभव था । परन्तु विगत वर्षों में विकसित विधियों के उपयोग से अनेक पौधों के ट्रांसजैनिक रूप विकसित किये गये जिसके कुछ महत्वपूर्ण उदाहरण निम्न है -

द्विबीजपत्री ट्रांसजैनिक पादप : तम्बाकू (Nicotiana tobacum), पिटूनिया (Petunia Hybrida), टमाटर (Lycopersicon Lycopersicum), आलू (Solanum tuberosum), बैंगन (Solanum Melongena), सूरजमुखी (Helianthus Annuus), तोरिया (Brassica Napus), गोभी की जातियाँ (Brassica Oleracea Sp.), कपास (Gossypium), सोयाबीन (Glycine Max), मटर (Pisum Sativum-), गाजर (Daucus Carrota), आदि ।

एकबीजपत्री ट्रांसजैनिक पादप : चावल (Oryza sativa), राई (Secale cerecale), गेहूँ (Triticum aestivum), मक्का (See mays) जई (Avena sativa) ।

उच्चवर्गीय पादपों में अनेक वांछित जीनों को निवेशित करवाकर उनमें वांछित लक्षण उत्पन्न किये गये हैं, जिनका अध्ययन निम्न रूपों में किया जा सकता है ।

12.2 ट्रांसजैनिक पादप एवं फसल सुधार (Transgenic Plant and Crop Improvement) -

12.2.1 खरपतवार नाशक प्रतिरोधी पादपों का निर्माण (Production of herbicide resistant plants)

खरपतवारनाशकों का उपयोग फसल उत्पादन को बढ़ाने में उपयोगी है, परन्तु खरपतवारनाशक खरपतवारों को नष्ट करने के साथ-साथ फसल पर भी प्रभाव डालते हैं, अत: फसल को खरपतवारनाशकों के विरू(प्रतिरोधी बनाना लाभकारी होता है । विभिन्न प्रकार के खरपतवारनाशक व फसल में उनके प्रति प्रतिरोधकता के निम्न तरीकों से उत्पन्न किया जा सकता है ।

लक्ष्य प्रोटीन का अधिक उत्पादन (Production of Target Protein)

ग्लाइफॉस्फेट (Glyphosphate, GP) : ग्लाइफॉस्फेट, EPSPS एन्जाइम (5-इनॉलपाइरूवेट शाइकिमेट 3-फॉस्फेट सिन्थेटेज) पर प्रभाव डालकर टाइरोसिन ट्रिप्टोफेन व फिनाइल एलेनिन के संश्लेषण को रोकता है । तम्बाकू व टमाटर में उत्परिवर्ती साल्मोनेला एरो A जीन (mutant salmonella area A gene) का प्रवेश करवाकर ग्लाइफॉस्फेट प्रतिरोधी ट्रांसजैनिक पादप तैयार किए गए हैं ।

फॉस्फोथाइसिन (Phosphotricin, PPT) : फॉस्फोथ्राइसिन, ग्लूटेमिन सिन्थेटेज एन्जाइम की क्रियाविधि पर प्रभाव डालकर ग्लूटेमिन संश्लेषण को रोकने ओके साथ-साथ क्लोरोप्लास्ट की संरचना में भी परिवर्तन कर देता है । गुडमेन व साथियों ने फॉस्फोथ्राइसिन प्रतिरोधी एल्फा-एल्फा की कोशिकाओं को अलग कर उनके क्लोन तैयार किए व उन्हें तम्बाकू की कोशिका में प्रवेश करवाकर फॉस्फोथाइसिन प्रतिरोधी ट्रांसजैनिक पादप तैयार किए हैं ।

लक्ष्य प्रोटीन में परिवर्तन (Modification of A Target Protein)

सल्फोनॉयल यूरिया व इमिडेजोलिन्स (Sulphonyl urea and imidazolines) : ये ALS एन्जाइम (एसीडोलेक्टेज सिन्थेटेज) को प्रभावित कर अमीनों अम्लों के संश्लेषण को रोक देने के साथ-साथ कोशिका विभाजन का भी निरोधन करते हैं । पादपों में इन खरपतवारनाशकों के प्रति प्रतिरोधकता उत्पन्न करने के लिए ALS जीन में उत्परिवर्तन करते हैं । उदाहरणतः एरेबिडोप्सिस से प्राप्त उत्परिवर्ती ALS जीन्स (mutant ALS gene) का निवेशन करवाकर निकोटियाना टोबेकम के सल्फोनॉयल यूरिया प्रतिरोधी ट्रांसजैनिक पादप तैयार किये गये हैं । टोबैको SURB Hra जीन के निवेशन द्वारा टमाटर, चुकंदर, सरसों के ट्रांसजैनिक पादप तैयार किए गए हैं ।

ट्राइएजीन्स (Triazines) : ये QB प्रोटीन को क्लोरोप्लास्ट थाइलेकोइड्स से बंधित करवाकर प्रकाश संश्लेषण को रोक देते हैं । QB प्रोटीन क्लोरोप्लास्ट जीन PsbA के द्वारा कोडित होते है । क्लेमाइडोमोनॉस, यूग्लीना, सानोबैक्टीरिया की कतिपय जातियों, ब्रेसिका कैम्प्रेसट्रिस से

प्राप्त उत्परिवर्ती PsbA जीन का निवेशन करवाकर शलजम, गोभी इत्यादि के ट्राइएजीन्स प्रतिरोधी पादप विकसित किए गए हैं ।

खरपतवारनाशकों का उपापचयी रूप से निष्क्रियकरण (Metabolically inactivating herbicide)

2, 4-D: एल्कैलीजीन्स यूट्रोपस से प्राप्त TFDA जीन एन्जाइम 2, 4-डाइक्लोरोफीनॉक्सी एसीटेट मोनोऑक्सीजिनेज को कोडित करता है जो 2, 4-D को अविषाक्त यौगिक 2,4-डाइक्लोरोफीनॉल में बदल देता है ।

ग्लाइफॉस्फेट : ग्लाइफॉस्फेट को अविषाक्त यौगिक में बदलने के लिए आवश्यक एन्जाइम को कोडित करने वाले जीन्स को प्राप्त करने के लिए स्थूडोमोनॉस प्रभेद पर कार्य प्रगति पर है ।

12.2.2 कीट प्रतिरोधी पादपों का निर्माण : फसल को हानि पहुंचाने वाले कीटों के प्रति प्रतिरोधकता बढ़ाना ।

फसलों को हानि पहुँचाने वाले कीटों के प्रति प्रतिरोधकता निम्न प्रकार से विकसित की जा सकती है ।

1. बेसीलस थ्रूजीएन्सिस एण्डोटॉक्सिन का निवेशन
2. पादपों में प्रोटीयेज निरोधकों का निवेशन
3. पादपों में कीटप्रतिरोधी द्वितीयक उपापचयकों का उत्पादन

बेसीलस थ्रूजीएन्सिस का निवेशन (Insertion of Bacillus thrugiensis)

सीरमप्ररूप के आधार पर बेसीलस थ्रूजीएन्सिस को 3० विभेदों में बाँटा गया है परंतु सीरमप्ररूप का इसकी कीटनाशी क्रिया से कोई संबंध नहीं है । यह बीजाणुजनन के समय पैरा-बीजाणीय (parasporal) क्रिस्टलीय टॉक्सिन उत्पादित करता है । इसी क्रिस्टलीय टॉक्सिन के कारण कीटनाशक होता है । क्रिस्टल प्रोटीन cry जीन द्वारा कोडित होता है जिसके 16 विकल्पी ज्ञात है । अधिकांश cry जीन संयुग्मनशील प्लाज्मिड में पाये जाते हैं । जब कोई कीट इन बीजाणुओं की अर्न्तग्रहित करता है तब मध्यांत्र (midgut) के क्षारीय वातावरण में प्रोटीएज निष्क्रिय cry प्रोटीन को विदलित कर देता है । विदलन के बाद 60 kDa आविष खंड प्राप्त होता है । बड़े cry प्रोटीनों में आविष खंड उनके N - सिरे के लगभग आधे भाग में स्थित होता है व C - सिरे का आधा भाग क्रिस्टलन को निर्धारित करता है । बड़े cry प्रोटीन अणु द्विपिरामिडीय आकार के क्रिस्टल बनाते हैं । छोटे cry प्रोटीनों में इस आकार के क्रिस्टल नहीं बनते है । यह आविष खंड मध्यांत्र उपकला की ब्रुश बार्डर कोशिकाओं की सतह पर उपस्थित उच्च बंधुता ग्राही अणुओं से जुड़ जाता है जिससे इन कोशिकाओं की झिल्ली में छिद्र बन जाते हैं जिनसे उपकला कोशिकाओं में आयनों जल का स्वतंत्र प्रवेश होता है जिससे ये कोशिकाएं फूलती जाती है व अंततः इनका लयन हो जाता है । परिणामस्वरूप कीटों की मृत्यु हो जाती है । विभिन्न cry प्रोटीनों की कीटों के लिए विशिष्टता मुख्य रूप से उपकला बुश-बार्डर कोशिकाओं में उपस्थित ग्राही अणुओं की विशिष्टता के कारण ही होता है । इसके अलावा cry प्रोटीनों का प्रोटीनलयन भी विशिष्टता का आधार हो सकता है ।

cry जीन के निवेशन से पौधों में कीट प्रतिरोधकता का विकास: बेसीलस थ्रूजीएन्सिस में क्रिस्टल प्रोटीन के निर्माण के लिए आवश्यक जीन cry (Bt) उपस्थित होती है उसे पृथक कर एग्रोबैक्टीरियम प्लाज्मिड (Ti) के उपयोग द्वारा तम्बाकू कपास, आलू टमाटर इत्यादि पादपों में निवेशित करवाकर इन पादपों में लेपिडोप्टेरा, डिप्टेरा व कोलियोप्टेरा वर्ग के कीटों के विरू (प्रतिरोधकता उत्पन्न की गई है । सभी पौधों में cry जीन की अभिव्यक्ति का स्तर काफी निम्न होता है इसके मुख्य कारण उनमें निम्न क्रमों का उपस्थित होना है ।

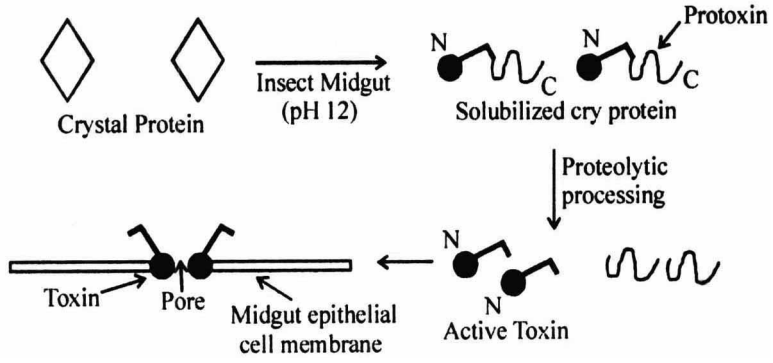


Fig. - Production of toxin segment due to proteolysis which forms pores in midgut epithelium

1. ये पादप इन्ट्रोंनों से कम मिलते-जुलते होते हैं ।
2. पादप-पॉलीएडिनिलेशन जैसे क्रम उपस्थित होते हैं जो अनुलेखन समाप्ति का संकेत देते हैं ।
3. mRNA को अस्थिर करने वाले क्रम (जैसे ATTA) उपस्थित होते हैं जो mRNA का शीघ्र अपघटन कर देते हैं ।

   यह पाया गया है कुछ पीढ़ियों के बाद कीटों में cry प्रोटीन के विरूद्ध रोधिता विकसित हो जाती है। जैसे-

1. हीलोथिस विरेसेंस कीटों में 7 पीढ़ियों के बाद cry प्रोटीन रोधिता में 24 गुना वृद्धि हो जाती है।
2. प्लोडिया इंटरपक्टेला में 36 पीढ़ियों के बाद एक प्रोटीन रोधिता में 250 गुना वृद्धि हो जाती है।

   कीटों में cry प्रोटीन रोधिता का विकास रोकने के लिए निम्न उपाय है -

1. एक ही किस्म में दो या अधिक प्रभावशाली cry जीनों का स्थानान्तरण किया जाये ।
2. भिन्न cry जीनों वाली दो या अधिक किस्मों को बदल-बदल कर (एक के बाद दूसरी) उगाया जाये ।
3. कीटों पर चयन दबाव कम किया जाये ।
4. cry जीनों की अभिव्यक्ति को पौधों के केवल आर्थिक महत्व के अंगों तक सीमित किया जाये।

पादपों में प्रोटीएज निरोधक जीन का निदेशन

यह उपापचयी निरोधी प्रोटीन्स हैं जो कि कीटों को नष्ट करने में प्रयुक्त होते हैं । उदाहरणतः विग्ना अन्गीकूलेटा (Vigna unguiculata) में ट्रिपसिन निरोधक CpTi जीन उपस्थित होता है, जो कि इसके बीजों को कैलोसोब्रुकस मेंकुलेटस कीटों के प्रति सुरक्षा प्रदान करता है । CpTi जीन को पृथक कर CaMV वाहक के उपयोग द्वारा तम्बाकू में निवेशित करवाकर तम्बाकू के ट्रांसजैनिक पादप तैयार किए गए हैं । इसी प्रकार सीरीन प्रोटीएज निरोधी, एप्रोटिनिन सीस्टीन प्रोटीएज निरोधी, प्रोटीएज निरोधी एवं लेक्टिन को निर्मित करने वाले जीनों को पौधों में निवेशित करवाकर उनमें कीटप्रतिरोधकता विकसित की गई है ।

पादपों में कीटनिरोधक द्वितीयक उपापचयकों के उत्पादन के लिए जीन का निवेशन

बहुत से द्वितीयक उपापचयक (secondary metabolites) पादपों की कीटों से सुरक्षा करते हैं । इन उपापचयकों का संश्लेषण अनेक पदों में होता हैं व प्रत्येक पद भिन्न-भिन्न जीन्स द्वारा नियंत्रित होता है । इन परिस्थितियों में ट्रांसजैनिक पादपों का उत्पादन कठिन होता है । संभवत् भविष्य में द्वितीयक उपापचयकों के संश्लेषण के लिए आवश्यक जीन के निवेशन द्वारा पादपों में कीट प्रतिरोधकता विकसित करना संभव होगा । कुछ लेग्यूम पादपों के बीजों में पाए जाने वाले द्वितीयक उपापचयक निम्न प्रकार है, जिनके कारण इन पादपों को विभिन्न कीटों के विरूद्ध सुरक्षा प्रदान होती है ।

12.2.3 वाइरस संक्रमण प्रतिरोधी पादपों का निर्माण (Production of Virus Resistant Plants)

वाइरस संक्रमण प्रतिरोधी पादप उत्पादित करने के लिए कई तरीके अपनाये जाते हैं ।

संकरण सुरक्षा (Cross Protection)

यदि सुग्राही फसल में वाइरस के मंद प्रभेद (mild strain) को निवेशित करवाया जाता है तब फसल में उग्र प्रभेद (virulent strain) के विरूद्ध प्रतिरोधकता विकसित हो जाती है । इस विधि द्वारा टमाटर में टोबैको मोजैक वाइरस व साइट्रस में साइट्रस ट्रिसटेजा वाइरस के विरूद्ध प्रतिरोधकता विकसित की गई है ।

आवरण प्रोटीन के निदेशन द्वारा सुरक्षा

इस विधि में वाइरस के आवरण प्रोटीन के जीन (Cp=coat protein) को पृथक कर इन्हें फसली पादपों में निवेशित करवाया जाता है, परिणामस्वरूप फसली पादप इस विशिष्ट वाइरस के विरूद्ध प्रतिरोधी हो जाते हैं । तम्बाकू में टोबैको मोजैक वाइरस (TMV) के आवरण प्रोटीन के निवेशन से यह पाया गया है कि तम्बाकू में TVM का संक्रमण कम हो जाता है व रोग के लक्षण अपेक्षाकृत विलम्ब से प्रकट होते हैं । इसी प्रकार टमाटर, एल्फा-एल्फा, चुकंदर, आलू आदि में भी संबंधित वाइरसों के आवरण प्रोटीन जीन स्थानान्तरित कर पाया गया कि सभी परिस्थितियों में आवरण प्रोटीन जीन की अभिव्यक्ति होने पर संबंधित वाइरस तथा उसके संबंधी वाइरसों के अलग-अलग परिमाण में रोधिता उत्पन्न होती है । यह माना जाता है कि आवरण प्रोटीन की उपस्थिति में वाइरस जीनोम आवरण मुक्त नहीं हो पाता है जो कि प्रतिकृति एवं अनुदन दोनों ही के लिए आवश्यक है । इसके अलावा Cp, जीन अभिव्यक्ति के कारण वाइरस

के सर्वांगीण प्रसार में रूकावट आती है, या देरी होती है जिससे रोग के लक्षण देरी से फैलते हैं ।

रोधिता निम्न कारकों द्वारा नियंत्रित होती है -

1. उत्पादित आवरण प्रोटीन का परिमाण
2. वाइरस संरोप की सान्द्रता
3. वाइरस का जीनप्ररूप
4. पादप जाति
5. तापमान ।

एन्टीसेन्स (प्रतिअर्थक) (RNA) द्वारा सुरक्षा (Protection through antisense RNA)

इस विधि में वाइरस के किसी अनिवार्य जीन को एन्टीसेंस अभिविन्यास में पादप जिनोम में समाकलित करते हैं । एन्टीसेन्स अभिविन्यास प्राप्त करने के लिए जीन द्वारा उत्पादित mRNA की cDNA प्रति को एक अभिव्यक्ति वाहक में जीन प्रमोटर के सापेक्ष प्रतिलोम स्थिति में समाकलित कर देते हैं । इस जीन के अनुलेखन से एन्टीसेन्स RNA प्राप्त होता है । एन्टीसेन्स RNA अणु mRNA अणुओं से युग्मन करके द्विलड़ीय RNA अणु बनाते हैं, जिनका अनूदन संभव नहीं हो पाता ।

सैटेलाइट RNA द्वारा सुरक्षा (Protection through satellite RNA)

कुछ पादप RNA वाइरस प्रभेदों के साथ सैटेलाइट RNAs जुड़े रहते हैं, परन्तु ये वाइरस जीनोम के साथ संबन्धित नहीं होते हैं । यह पाया गया है कि कुछ सैटेलाइट RNAs, वाइरस के प्रभावों को निष्क्रिय कर देते हैं । सैटेलाइट वाइरसों के प्रयोग से फसली पादपों में CVM संक्रमण के प्रति सुरक्षा उत्पन्न की गई है ।

त्रुटिपूर्ण जिनोम वाइरस

कई वाइरसों के कुछ कणों में सामान्य जिनोम के अलावा त्रुटिपूर्ण जिनोम भी उपस्थित होते हैं, जो सामान्य जिनोम की प्रतिकृति को बाधित करते हैं । यह स्थिति RNA एवं DNA दोनों ही प्रकार के वाइरसों में होती है । उदाहरणार्थ, अफ्रीका कैसावा मोजैक वाइरस, (ACMV) के जिनोम में दो एकलड़ीय अणु (A-DNA एवं B-DNA) होते हैं । कुछ B-DNA कणों में इन दोनों अणुओं के अलावा एक 50 प्रतिशत न्यून B-DNA (त्रुटिपूर्ण जिनोम) भी पाया जाता है । इस न्यून B-DNA को तंबाकू के जीनोम में समाकलित करने से प्राप्त पराजीनी पौधों में कुछ ACMV द्वारा ग्रामीण संक्रमण एवं रोग की तीव्रता दोनों में ही काफी कमी पायी गई है ।

12.2.4 कवक संक्रमण प्रतिरोधी पादपों का निर्माण (Production of Fungal Resistant Plants) -

कवक-प्रतिरोधी जीन को पृथक कर, इस जीन को उचित वाहक के साथ जोड़कर, पादपों में निवेशित करवाने से ट्रांसजैनिक पादप प्राप्त हो सकते हैं ।

Table 12.1 Some Pathogens for which resistance has been transferred in some crop plants

Pathogen	Disease	Resistance gene	Source of gene	Transgenic crop
Pseudomonas	Wild fire	Acety transferase gane		Tobacco
Altermariea longipes	Brownspot	Citinase gane	Serratia Marcescens	Tobacco
Rhizoctonia Solani		Chitinase gane	(soil bacterium)	Tobacco
Phytophthora infestans	Late blight	Osmotin gene	Bean	Patato

12.2.5 जैव रसायनों का उत्पादन (Production of Biochemicals)

मानव की अधिकाधिक आवश्यकताएं पौधों से पूर्ण होती है । चूँकि पौधों द्वारा उत्पादों का निर्माण सरल, सस्ता एवं सुविधाजनक होता है अत: आनुवांशिक अभियांत्रिकी द्वारा पौधों में कई जीनों के निवेशन से अंतर्जात जैवसंश्लेषण पथों में नई शाखाएँ उत्पन्न करके नये मूल्यवान एवं उपयोगी उत्पाद उत्पादित किए जाते हैं इसके कुछ उदाहरण निम्न है

साइक्लोडेक्स्ट्रिन : ये ग्लूकोपाइरैनोज एककों से बने चक्रीय ऑलिगोसैकेराइड हैं जिन्हें क्लेब्सिएला न्युमोनिई द्वारा उत्पादित एन्जाइम साइक्लोडेक्स्ट्रिन ग्लूकोसिलट्रांसफिरेज (cyclodextrin gulcosyltransferase, CGI) के उपयोग से एन्जाइम रिऐक्टरों में उत्पादित किया जाता है । ये औषधि मोचन (drug delivery), स्वाद, गंध व अवांछित यौगिकों (उदाहरणार्थ कॉफी से कैफीन) के निष्कासन के लिए प्रयोग में लाये जाते हैं । CGI कोडित करने वाले बैक्टीरियाई जीन को आलू के कंदों में अभिव्यक्त करने पर कदों के कुल स्टार्च का 0.001 से 0.01 प्रतिशत तक साइक्लोडेक्स्ट्रिन एकत्र होता है । आलू में CGI जीन-रचना में RuBISCO के लघु उपइकाई के संकेतक पेप्टाइड को कोडित करने वाले कम को जोड़े जाने से CGI एन्जाइम का अभिगमन स्टार्च संग्रहित करने वाले एमाइलोप्लास्ट में होता है ।

पॉलीहाइड्रोक्सी ब्यूटारेट (phb) : जीवाणु ऐल्कीजीन्स यूट्रोफस में उपस्थित phbB एवं phbC जीन क्रमश: एसिटोएसिटाइल CoA रिडक्टेज व phb सिन्थेटेज एन्जाइम को उत्पादित करते हैं । जो ऐसिटिल CoA को phb में बदल देते हैं । अत: उपरोक्त जीवाणु के उपयोग से रिएक्टरों में phb उत्पादित करवाया जाता है । इस जीवाणु के जीन phbB एवं phbC को एरैबिडाप्सिस थैलियाना में स्थानांतरित करवाकर phb उत्पादित करवाया गया है । phb के उपयोग से जैवअपघटनीय (Biodegradable) प्लास्टिक का निर्माण किया जाता है ।

हिरूडिन प्रोटीन : थ्रोम्बिन निरोधक हिरूडिन को कोडित करने वाले जीन को तेल-काय प्रोटीन ओलेसिन के जीन के साथ जोड़कर के ब्रैसिका नेपस में अभिव्यक्त किया गया है । इस जीन-

रचना द्वारा उत्पादित हिरूडिन आलेसिन के साथ जुड़ा हुआ रहता है । इससे हिरूडिन की प्राप्ति अत्यधिक सरल हो जाती है । ट्रांसजैनिक ब्रैसिका के उपयोग से हिरूडिन को व्यापारिक स्तर पर उत्पादित करवाया जा रहा है ।

फॉइटेज प्रोटीन

एस्पर्जिलस नाइगर कवक का एक जीन फॉइटेज एन्जाइम उत्पादित करता है जिसके आहार में उपस्थित होने पर उन्हें फॉस्फोरस संपूरकों की आवश्यकता नहीं पड़ती । फॉइटेल कोडित करने वाले जीन को तंबाकू में अभिव्यक्त किया गया है । इस ट्रांसजैनिक तंबाकू के बीजों को आहार में मिलाने पर बायलर मुर्गियों के शरीर भार से 4 सप्ताह में फॉस्फोरस संपूरकों को आहार में मिलाने से हुई फॉइटेज की वृद्धि की समान ही वृद्धि होती है । इसे अशोधित रूप में ही उपयोग किया जा सकता है ।

12.2.8 पादपों द्वारा टीकों का उत्पादन -

पादपों में उत्पादित प्रतिजन प्रोटीनों को दो प्रकार से प्रयुक्त किया जा सकता है - खाद्य टीकों व शोधित प्रतिजनी प्रोटीन टीकों के रूप में ।

खाद्य टीकों के रूप में उपयोग

इस उद्देश्य के लिए प्रतिजन प्रोटीन को कोडित करने वाले जीन को पौधों के वांछित अंग (जैसे आलू के कैद, केले के फल आदि) में अभिव्यक्त करते हैं व इन अंगों को जंतु / मानव को खिलाने पर प्रतिरक्षी क्षमता का विकास होता है । उदाहरणार्थ इ.कोलाई का ऊष्मा-अस्थिर आंत्र-आविष-B उपइकाई (heat-labile enterotoxin-B subunit, LT-B) को आलू एवं तम्बाकू में अभिव्यक्त किया गया जो कि हैजा आविष (choleratoxin,CT) के समान होता है इस प्रकार LT-B को CT के स्थान पर हैजा टीके के लिए उपयोग लिया जा सकता है ।

शोधित पुनर्योजी टीके के रूप में

इस उद्देश्य के लिए प्रयुक्त एक विधि में वांछित जीन को पादप में निवेशित करवाकर प्रतिजनी प्रोटीन को उत्पादित करवाते हैं, तत्पश्चात् प्रतिजनों को शोधित करके टीकों के रूप में प्रयुक्त करते हैं । उदाहरणतः यकृत शोध B (hepatitis B) के सतह प्रतिजन (surface antigen, HBsAg) को तंबाकू की पत्तियों में अभिव्यक्त किया गया है । इस प्रतिजन के अशोधित निष्कर्ष का इंजेक्शन देने से मूषकों में B-एवं T-लिंफोसाइटों द्वारा प्रतिरक्षा अनुक्रिया उत्पन्न होती है । T-कोशिकाओं की प्रतिरक्षा अनुक्रिया यकृतशोध B के लिए रोधक्षमता उत्पन्न करने के लिए आवश्यक है । शोधित पुनर्योजी टीके के निर्माण करने वाले क्रमों को किसी उपयुक्त पाइप वाइरस के आवरण प्रोटीन जीन से जोड़ देते हैं । इस पुनर्योजी वाइरस से पौधों को संक्रमित करवाया जाता है जहाँ उसकी असंख्य प्रतियां उत्पादित होती है । अब इन वाइरस कणों को अलग कर शोधित करते हैं, और उन्हें इंजेक्शन या मुख से लिया जाता है । उदाहरणार्थ मानव प्रतिरक्षा न्यूनता वाइरस 1 (Human immunodeficiency virus-1; HIV-1) के प्रतिजनी एपिटोप को कोडित करने वाले क्रम को CPMV के लघु आवरण प्रोटीन को कोडित करने वाले जीन से जोड़कर लोबिया में अभिव्यक्त किया गया तथा प्राप्त पुनर्योजी वाइरसों

द्वारा मूषकों में प्रतिरक्षाजनक अनुक्रिया प्रेरित की गई जो कि HIV-1 के तीन प्रभेदों के लिए विशिष्ट है ।

12.2.7 नर बंध्य पौधों की प्राप्ति

सर्वप्रथम मैरियानी एवं सहयोगियों (1990) में बैसिलस एमाइलोलिक्वेफेसिएंस के बार्नेज जीन को तंबाकू व तोरिया के पौधों में निवेशित करवाकर इनमें नर बंध्यता उत्पन्न की गई है । बार्नेज जीन एक प्रकार का RNase उत्पादन करता है, जिससे पौधों में नर बंध्यता उत्पन्न होती है । बार्नेज जीन को एक टैपीटम विशिष्ट प्रमोटर TA29 से प्रचलित करने पर इसकी अभिव्यक्ति केवल परागकोषों की टैपीटम कोशिकाओं में होती है । यह नर बंध्यता प्रभावी होती है । अत: प्राप्त नर बंध्य पौधे विषम युग्मनज होते हैं व इनके अनुरक्षण के लिए प्रत्येक पीढ़ी में इन्हें सामान्य पौधों से संकरण करवाया जाता है । इसी बैक्टीरिया में का एक अन्य जीन बारस्टार एक प्रोटीन कोडित करता है, जो बार्नेज कोडित RNase विशिष्ट निरोधक उत्पन्न करता है । इस जीन के उपयोग से नर उर्वर पौधें प्राप्त किये जाते हैं । संकर बीज उत्पादन के लिए बार्नेज नर बंध्य पौधों का संकरण बारस्टार से करते हैं ।

इस प्रकार प्राप्त संकर पौधों में आरएन (RNase) को बारस्टार प्रोटीन निरोधित कर देता है, अत: ये पौधे नर उर्वर होते हैं ।

12.2.8 बीज प्रोटीन गुणवत्ता में सुधार

जीन अभियांत्रिकी द्वारा वांछित बीज प्रोटीनों में सुधार की निम्न प्रविधियाँ है ।

वांछित अमीनों अम्ल को संश्लेषित करने वाले जीन का निवेशन

इस विधि में फसल में कम मात्रा में उपस्थित अमीनों अम्ल को कोडित करने वाले जीन को निवेशित करवाकर फसल में इसके उत्पादन को बढ़ाया जाता है । मटर के बीज प्रोटीनों में सल्फर युक्त अमीनो अस्त (मेथियोनीन एवं सिस्टीन), काफी कम होते हैं, क्योंकि इसके प्रमुख घटक विसिलिन में ये अमीनों अस्त अनुपस्थित होते हैं । सूरजमुखी के बीज में भंडारित प्रोटीन, SFA8 (Sunflower albumin 8)मे 23 प्रतिशत सल्फर युक्त अमीनों अन्त होते हैं । SFA 8 को कोडित करने वाले जीन को विसिलिन प्रमोटर के साथ जोड़कर मटर में स्थानान्तरण की योजना बनाई गई है । यह माना गया है कि यदि मटर के बीज में उपस्थित निष्कर्षणीय प्रोटीन का 4 प्रतिशत भी SFA8 हुआ तो बीज प्रोटीन की सल्फर युक्त अमीनों अम्लों की औसत मात्रा में 40 प्रतिशत वृद्धि संभव होगी ।

अंतर्जात जीनों में परिवर्तन (Changes in endogenous genes)

इस विधि में संबंधित फसल के वांछित प्रोटीन को संश्लेषित करने वाले जीन को अलग व क्लोन कर इसके क्षारक में आवश्यक परिवर्तन कर लेते हैं तत्पश्चात् इस परिवर्तित जीन को पुन: पौधों में स्थानान्तरित कर दिया जाता है । अंतर्जान परिवर्तनों के समय यह ध्यान रखना चाहिये कि इनसे प्रोटीनों के वलन पैटर्न स्थायित्व आदि पर प्रभाव न पड़े व परिवर्तित जीनों का पठन फ्रेम (reading frame) अपरिवर्तित रहे अर्थात् वे क्षारक जिनमें परिवर्तन न किया गया हो, अपने मूलरूम में रहे । उदाहरणार्थ धान्यों में प्रोलैमिन जीन में उपर्युक्त परिवर्तन से इनमें

लाइसीन व ट्रिप्टोफैन की मात्रा में वृद्धि की गई है । धानों के भंडारण प्रोटीन जीन ग्लूटेलिन । (gt I, glitelin I) में परिवर्तन से यह पाया गया कि कोडित प्रोटीन में अधिक लाइसीन उपस्थित था । रूपांतरित gt I को धान में स्थानान्तरित किया गया है ।

पोषणरोधी अंतर्जान जीनों का दमन (Suppression of antinutritional endogenous genes)

कभी -कभी पोषकरोधी अंतर्जात जीनों की क्रियाओं का दमन करना लाभदायक होता है । अंतर्जान जीनों का दमन निम्न विधियों द्वारा करवाया जा सकता है ।

प्रतिअर्थक RNA तकनीक (Antisense DNA technology) - इस विधि में लक्ष्य जीन को प्रतिअर्थक अभिविन्यास में पादप के जीनोम में समाकलित करते हैं । प्रतिअर्थक अभिविन्यास प्राप्त करने के लिए लक्ष्य जीन द्वारा उत्पादित mRNA की RNA प्रति को एक अभिव्यक्ति वाहक में जीन प्रमोटर के सापेक्ष प्रतिलोम स्थिति में समाकलित कर देते हैं । इस जीन के अनुलेखन से प्रतिअर्थक RNA प्राप्त होता है । प्रतिअर्थक RNA अणु mRNA अणुओं से युग्मन करके द्विलड़ीय RNA अणु बनाते हैं जिनका अनूदन संभव नहीं हो पाता । उदाहरणार्थ -

1. टमाटर का पॉलीगैलैक्टयूरोनेज PG) एन्जाइम कोशिका भित्ति के एक प्रमुख घटक पेक्टिन का पाचन करता है जिससे फल जल्दी ही नरम एवं पिल-पिले हो जाते हैं ।PG एन्जाइम कोडित करने वाले जीन की प्रतिअर्थक रचना को टमाटर में स्थानान्तरित किया गया । इस प्रकार से प्राप्त ट्रांसजैनिक पौधे में PG क्रिया बहुत कम होती है और फल देर से नरम होते हैं । इस प्रकार की एक किस्म को 'फलोवर सेवर (Flavour Saver) नाम से अमेरिका में व्यापारिक स्तर पर उगाया जा रहा है ।
2. ब्रैसिका रेपा व ब्रै. नेपस में एन्जाइम स्टिरॉइल ACP डीसेचुरेज (ACP=acy1 carrier protein, एसिल वाहक प्रोटीन) सिटरॉइल ACP ऑलिओइल ACP परिवर्तन उत्प्रेरित करता है । यह वसीय अम्लों के विसंतृप्तन (desaturation) की प्रथम अभिक्रिया है । इस एन्जाइम को कोडित करने वाले जीन की प्रतिअर्थक रचना को ब्रै. रेपा व ब्रै. नेपस में स्थानान्तरण से प्राप्त ट्रांसजैनिक पौधों के तेल में स्टिएरिक अम्ल अंश 2 प्रतिशत से बढ़कर 40 प्रतिशत हो जाता है तथा ओर्लाक अम्ल का अंश घट जाता है ।
3. परागकणों के परिपक्वन के लिए फ्लैवोनाएड अनिवार्य होते हैं । चैल्कोन सिंथेज (chalcone synthase, CHS) फ्लैवोनाएठ संश्लेषण का मुख्य एन्जाइम है । पिट्यूनिया में CNS की प्रतिअर्थक रचना के स्थानान्तरण से यह पाया गया कि फूल सफेद व परागण निष्क्रिय होते हैं अर्थात् प्राप्त पौधे नरबंध्य होते हैं । यह नर बंध्यता प्रभावी होती है, अत: सामान्य पौधों से संकरण करने से प्राप्त संततियाँ भी नर बंध्य होती है । इन पौधों के परागकणों को कुछ फ्लैवोनाएडों का लेपन करने से ये परागकण निषेचन करने में सफल रहते हैं । यह विधि संकर बीजों (hybrid seed) के उत्पादन में उपयोगी है । इसी प्रकार

आलू तंबाकू में rolc जीन की प्रतिअर्थक रचना के समाकलन से उनमें नर बंध्यता उत्पन्न करवायी जा सकती है ।

अंतर्जात जीनों का सहदमन (Co-suppression of Enddogenous genes)

कुछ पादप जीनों की आवश्यक सांद्रता से अधिक अनुलेखन होने पर उसकी अभिव्यक्ति में कमी आती है, क्योंकि ये अनुलेख वर्णनात्मक रूप से RNase द्वारा विघटित कर दिये जाते हैं । इसे सहदमन (co-suppression) कहते हैं । वर्णनात्मक विघटन का मुख्य आधार RNA अनुलेखों की प्रतिअर्थक प्रतियों का उत्पादन है जो रेप्लिकेज की क्रिया द्वारा RNA अनुलेखों के अनुलेखन द्वारा उत्पादित होते हैं । ये RNA अनुलेखों से युग्मन कर लेते हैं व इन युग्मनों का RNase द्वारा विघटन होता है । किसी जीन का अनुलेखन आवश्यकता से अधिक मात्रा में करवाने के लिए इस जीन को अलग कर इसे एक अभिव्यक्ति वाहक में सामान्य अर्थक दिकविन्यास (sense orientation)ए में निवेशित करके पादप जीनोम में सामान्य अर्थक करते हैं । ऐसा करने पर संबंधित जीन का सहघ्न हो सकता है । इस विधि से तम्बाकू के ग्लूटेमिन व सिन्थेटेज व टमाटर में ACC सिंथेज का सहदमन करवाया गया है ।

12.2.9 पौधों में N_2 स्थिरीकरण की क्षमता को बढ़ाना

क्लेबिसियला न्यूमोनाइ के nif जीन (N_2, स्थिरीकरण के लिए उत्तरदायी) को क्ले.ऐरोजीन्स साल्मोनेला टाइफीम्यूरियम, इरविनिया हरबिकोला सिरेटिया मारीबीसकेन्स में स्थानान्तरित कर इनमें N_2, स्थिरीकरण की क्षमता विकसित की गई है । राइजोबियम के nif जीन को एग्रोबैक्टीरियम ट्यूबीफेशियन्स वाहक के उपयोग द्वारा गेहूँ चावल इत्यादि में स्थानान्तरित करवाकर इनमें N_2, स्थिरीकरण की क्षमता विकसित की गई है ।

12.3 बोध प्रश्न

निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर दो :

I रिक्त स्थान भरो:

1. क्रिस्टल प्रोटीन ..... जीन द्वारा कोडित होता है ।
2. एन्टीसेन्स तकनीक में किसी अनिवार्य जीन को .....अभिविन्यास में पादप जिनोम में समाकल्पित करते हैं।
3. ऊष्मा-अस्थिर आंत्र-आबिष -B को ..... के स्थान पर उपयोग लिया जा सकता है ।

II बहुविकल्पी प्रश्न :

1. cry जीन किसमें पाया जाता है ।
   (अ) Streptococcus (ब) Bacillus Subtiles
   (स) Bacillus Thrugiensis (द) Staphyllococcus
2. CVM संक्रमण के प्रति सुरक्षा निम्न तकनीक से अर्जित की गई -

(अ)Cross Protection(संकरण सुरक्षा) (ब)Satelliti Virus (सैटेलाइट वाइरस)

(स)Auntisanse Tachnique(एन्टीसेन्स तकनीक) (द)Defected Genome Virus (त्रुटिपूर्ण जीनोम वाइरस)

III निम्न प्रश्नों का संक्षेप में उत्तर दो :

1. ट्रांसजैनिक पादप क्या है?

   ……

2. तीन ट्रांसजैनिक जातियों के उदाहरण दीजिए ।

   ……..

3. खरपतवारनाशक प्रतिरोधी पादप निर्माण के तीन प्रमुख तरीके बताइये ।

   ……

12.4 सारांश (Summary)

जीन अभियांत्रिकी की सहायता से किसी जीव से पृथक किए गए वांछित जीन को किसी भी पादप जाति में स्थानान्तरित करके ट्रांसजैनिक पादप बनाए जाते है । फसल सुधार कार्यक्रम में ट्रांसजैनिक पादप किसी वांछित लक्षण के लिए बनाए जाते हैं । जैसे - खरपतवारनाशक विरोधी पादपों का निर्माण, कीट प्रतिरोधी पादपों का निर्माण, वाइरस संक्रमण प्रतिरोधी पादपों का निर्माण, कवक संक्रमण प्रतिरोधी पादपों का निर्माण, जैव रसायनों का उत्पादन, पादपों द्वारा टीकों का उत्पादन, नर बंध्यों पौधों की प्राप्ति, बीज प्रोटीन गुणवत्ता में सुधार, पौधों में N_2, स्थिरीकरण की क्षमता को बढ़ाना

12.5 शब्दावली (Glossary)

1. **ट्रांसजैनिक पादप-**एक उर्वर पादप जिसके जीनोम में किसी अन्य जीव का जीन उपस्थित रहता है ।
2. **ऐंटीसेन्स तकनीक -** प्रोटीन के ट्रांसलेशन को एक DNA या RNA अनुक्रम से रोक (Block) दिया जाता है ।
3. **जैनेटिक इंजीनियरिंग -** एक जीव से दूसरे जीव में एक जीन या जीनों का स्थानान्तरण ।
4. **जीन ट्रांसफर -** दो जीवों के बीच में आनुवांशिक सामग्री का आदान-प्रदान ।
5. **जीन -** आनुवांशिकी सामग्री की इकाई, जो एक विशेष लक्षण की कोड करती है ।
6. **जी एम ओ (Genetically Modified Organism)-**आनुवांशिक परिवर्तन के परिणामस्वरूप बने जीव ।
7. **डी एन ए -** आनुवांशिक सूचना ले जाने वाला अणु ।

12.6 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Books)

1. बायोटेक्नोलॉजी - एस.एस.पुरोहित, महेन्द्र जीत असीजा
2. आनुवंशिकी एवं जैव तकनीकी - पी.एल.पारिख
3. Introduction to Plant Biotechnology- एच.एस.चावला

12.7 बोध प्रश्नों के उत्तर

I) 1. Cry (क्राई)
2. Antisense (एन्टीसेन्स)
3. CT (Cholrotoxin)

II) 1. C
2. B

III) 1. वो पादप जिनके जीनोम में अन्य जाति से DNA स्थानान्तरित कर दिया जाता है ।
2. (Gossypium sp.) कपास, Oryza Sativa (चावल)
3. (i) लक्ष्य प्रोटीन का अधिक उत्पादन
(ii) लक्ष्य प्रोटीन में परिवर्तन
(iii) खरपतवार नाशकों का उपापचयी रूप से निष्क्रियण

12.8 अभ्यासार्थ प्रश्न (Exercise Question)

1. ट्रांसजैनिक पादप की फसल सुधार में भूमिका, उदाहरण सहित समझाइये ।
2. संक्षिप्त टिप्पणियाँ:
(i) वायरस संक्रमण प्रतिरोधी पादपों का निर्माण
(ii) खाने योग्य वैक्सीन
(ii) ट्रांसजैनिक पादप
3. कीट प्रतिरोधी पादपों के निर्माण पर प्रकाश डालिए ।

इकाई 13

जैव प्रौद्योगिकी- कृषि एवं चिकित्सा

(Biotechnology - Agriculture and Medicine)

इकाई की रूपरेखा

13.0 उद्देश्य

13.1 प्रस्तावना

13.2 जैव प्रौद्योगिकी एवं कृषि

13.2.1 अगुणित पादपों का उत्पादन व अनुप्रयोग

13.2.2 किस्मों का सुधार

13.2.3 कृत्रिम बीजों का निर्माण

13.2.4 पराजीनी पौधों का निर्माण

13.3 जैव प्रौद्योगिकी एवं चिकित्सा

13.3.1 रोग निरोध

13.3.2 रोग निदान

13.3.3 आनुवांशिक रोगों का निदान

13.3.4 चिकित्सकीय औषधियाँ

13.3.5 विधि विज्ञान

13.3.6 जीन उपचार

13.3.7 उर्वरता नियन्त्रण

13.4 सारांश

13.5 शब्दावली

13.6 बोध प्रश्न

13.7 संदर्भ ग्रन्थ

13.8 बोध प्रश्नों के उत्तर

13.9 अभ्यासार्थ प्रश्न

13.0 उद्देश्य (Objective)

जैव प्रौद्योगिकी (Biotechnology) शब्द की उत्पति जीव विज्ञान एवं प्रौद्योगिकी शब्द के मिलाने से हुई है । जैविक घटकों जैसे सूक्ष्मजीव, जन्तु एवं पादप कोशिकाओं अथवा उनके अवयवों के नियन्त्रित उपयोग से मानव के लिए उपयोगी उत्पादों या सेवाओं का उत्पादन जैव प्रौद्योगिकी कहलाता है ।

-जैव प्रौद्योगिकी का मानव कल्याण के लिए व्यापक तथा व्यावसायिक स्तर पर उपयोग किया जाता है । कृषि, उद्योग, चिकित्सा, एन्जाइम अभियांत्रिकी तथा पर्यावरणीय क्षेत्रों में इस तकनीक की कई नई-2 विधियों का उपयोग कर मानव जीवन को अधिक सुगम व सरल बनाया है ।

13.1 प्रस्तावना (Introduction)

विज्ञान व अभियांत्रिकी के सिद्वान्तों के आधार पर जीवों या उनके अवयवों का विस्तृत पैमाने पर उपयोगी उत्पादों का उत्पादन किया जाता है । जैव प्रौद्योगिकी के सिद्वान्त, विषयवस्तु, उपकरण व तकनीकों में विविधता एवं सक्रियता होती हैं जिनका उद्देश्य मानव जीवन को अधिकाधिक सुविधाजनक बनाना है । आज के इस तकनीकी युग में जैव प्रौद्योगिकी मानव जीवन का एक अभिन्न हिस्सा बन चुकी है, जिसका बहुतायत उपयोग कृषि, बागवानी, पशु, प्रजनन एवं मानव के आनुवांशिक रोगों के निदान में किया जाता है ।

सूक्ष्मजीवों के प्रभेदों का वरण कर उनकी प्राकृतिक क्षमताओं द्वारा कई रसायनों का व्यापारिक स्तर पर उत्पादन किया जाता है जैसे अमीनो अम्ल, विटामिन, कार्बनिक अम्लों, एथेनॉल आदि । मनुष्य लगातार यह प्रयास करता रहा है कि सूक्ष्मजीवों में एकदम नई व अति उपयोगी क्षमतायें उत्पन्न की जा सकें । अब हम DNA की संरचना, जीन का प्रकार, अभिव्यक्ति, क्लोनन करना एवं जीन स्थानान्तरण करना जान गये है । DNA पुनर्योगज तकनीकी द्वारा किसी भी जीव से मनचाहे उपयोगी जीन को किसी अन्य जीव में स्थानान्तरित किया जा सकता है । इस विधि के उपयोग से कई जीवों में सर्वथा नई, अभूतपूर्व एवं बहुमूल्य क्षमताओं का विकास किया गया है । जैसे-मानव के इन्सुलिन जीन का ई. कोलीई जीवाणु के गुणसूत्र में स्थानान्तरित करके पात्रे-संवर्धन में इन्सुलिन का उत्पादन करना । जीवाणु द्वारा उत्पादित इन्सुलिन का उपयोग मानव की मधुमेह बीमारी के निदान के लिये किया जा रहा है ।

13.2 जैव प्रौद्योगिकी एवं कृषि (Biotechnology and Agriculture)

गॉथरे, व्हाईट तथा स्कूग के अग्रेंजी प्रयासों से पादप उत्तक संवर्धन तकनीकी पिछले 50 वर्षों में एक बहुत उन्नत व शक्तिशाली प्रौद्योगिकी बन गयी । इस तकनीक में पादप कोशिकाओं, उत्तकों एवं अंगों के पात्रे संवर्धन द्वारा कैलस संवर्धन, कोशिका संवर्धन, भ्रूण संवर्धन, परागकोष संवर्धन व प्रोटोप्लास्ट संगलन द्वारा कायिक संकर की उत्पति जैव प्रौद्योगिकी के विकास व कृषि पर प्रभाव को दर्शाता है । उपरोक्त संवर्धनों की प्राप्ति पादप कायिक कोशिकाओं की पूर्णशक्तता के कारण संभव हुआ है, जिसे हेबरलैंड के प्रयोग द्वारा सिद्व किया गया । पूर्णशक्तता का तात्पर्य है कि परिपक्व पादप कोशिकाएं उन सभी परिवर्धन करने में सक्षम है जो कि युग्मनज कर सकता है ।

कृषि के क्षेत्र में एकबीजपत्री पौधे मुख्य धान्य है और अभी तक ये पौधे अनेक संवर्धन कार्य के लिये कठिन पदार्थ थे, लेकिन अब कई एक बीजपत्री पौधों मे पुर्नजनन कर लिया गया है । उदाहरणार्थ-गेहूं (ट्रिटीकम सटाइवम) में जड़ से, ज्वार (सोरगम बाइकालर) में प्ररोहाग्र से, गन्ने (सेकेरम ऑफीसिनेरम) में पत्ते के खण्डों से, चावल (ओराइजा सेटाइवा) में परागकोष से तथा

कई अन्य में पुष्पक्रम से । स्वामीनाथन (1987) ने पादप प्रोटोप्लास्ट, कोशिकाओं व ऊतकों का पात्रे संवर्धन कर इनके निम्न अनुप्रयोग पर जोर दिया -

- कोशिका व प्रोटोप्लास्ट का DNA वाहकों के साथ संवर्धन करना ताकि जीन स्थानान्तरण किया जा सके ।
- उपयोगी पदार्थो / अवयवों का उत्पादन करना ।
- जैविकीय नाइट्रोजन-स्थिरीकरण प्रकिया को अधिक विस्तृत करना ।
- नाइट्रोजन-स्थिरीकरण न करने वाली जातियों में इन जीनों का स्थानान्तरण करना ।

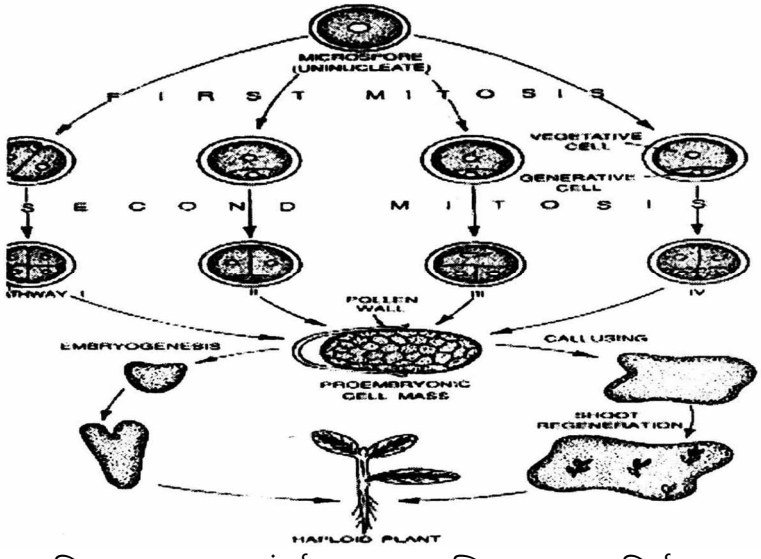
जैव प्रौद्योगिकी का कृषि पर निम्न प्रभाव देखा गया है -

13.3.1 अगुणित पादपों का उत्पादन व अनुप्रयोग

सर्वप्रथम सतीश माहेश्वरी व शिप्रा गुहा (1964) ने धतूरा इनॉक्सिया के परागकोषों से अगुणित पौधों का विकास किया । बाद में बुर्जिन व निश्च ने फ्रांस में तम्बाकू के पूर्ण अगुणित पादप तैयार किये । अगुणित पादप दो कारणों से उपयोगी है-

- गुणसूत्रों का एक ही समूह उपस्थित होने से उत्परिवर्तियो का पृथक्करण सुविधाजनक हो जाता हैं ।
- गुणसूत्रों का द्विगुणन करने पर समजीनी द्विगुणित पादप तैयार हो सकते है ।

परागकोष व परागकण संवर्धन द्वारा अगुणित पादप कुछ ही सप्ताह में तैयार किये जा सकते है तथा गुणसूत्रों के द्विगुणन से समयुग्मज द्विगुणित पादप उत्पन्न किये जाते है । इन जननक्षम समयुग्मज पादपों का उपयोग अत: प्रजा तक लाइनों के संकरण में किया जा सकता है ।



चित्र 1- परागकण संवर्धन द्वारा अगुणित पादप का निर्माण

अगुणित बनाने की कई विधियाँ है, जैसे - अण्ड कोशिका से अनिषेक जनन द्वारा आ उत्पन्न करना, गुणसूत्रों का विलोपन. परागण में विलम्ब, ताप आघात तथा कैलस से पुनर्जनन आदि । ट्रिटीकम डाइकोकम तथा ट्रि. परसिकम में X - किरणों से उपचारित परागकणों द्वारा अगुणित

तैयार किये गए है । कृषि के क्षेत्र में अगुणित संवर्धन का उपयोग निम्न प्रकार से किया जाता है-

(i) **उन्नत किस्मों का विकास :** अगुणित पौधों का गुणसूत्रों के द्विगुणन (कॉल्विसीन उपचार) करने पर द्विगुणन-अगुणित समयुग्मज पौधे प्राप्त होते हैं । इस प्रकार इन समयुग्मजी लाइनों की प्राप्ति 6 वर्षा के स्थान पर 2 वर्षों में ही हो जाती है । चीन, जापान, कनाडा, यूरोप आदि में इस विधि द्वारा कई व्यापारिक किस्मों का विकास भी किया गया है । परागकोष संवर्धन हो. बुलबोसम के साथ संकरण से प्राप्त अगुणितों के उपयोग से विकसित कुछ किस्में निम्न है -

अगुणित उत्पादन विधि	**फसल**	**किस्म**	**देश**
परागकोश संवर्धन	धान	तान्फ़ेग-1, झांधुआ-8.9	चीन
परागकोश संवर्धन	गेहूँ	हुआ पेई-1, जिंधुआ-1	चीन
परागकोश संवर्ध	तम्बाकू	मिंगो, ग्विलन	कनाडा
हो. बुल्बोसम	जौ		

जौ की मिंगो व ग्विलैन किस्में चूर्णिल आसिता एवं जौ पीत मोजेक वाइरस के प्रति बेहतर रोधिता तथा सुधरी उपज वाली है । जापान में विकसित तम्बाकू की ?-2 11 किस्म बैक्टिरियाई ग्लानि रोग व मृदु धूमन गुणवता वाली है ।

(ii) **बिशुद्व प्रजनन लाइनें :** अगुणित पादपों से गुणसूत्र द्विगुणन तकनीकी द्वारा विशुद्व प्रजनित द्विगुणित लाइनों के विकास से कई किस्मों का उत्पादन किया जाता है । उदाहरणार्थ-एकन्यूनसूत्री तम्बाकू पादप की नई किस्में ।

(iii) विषाणु-मुक्त पौधे : परागकोष संवर्धन द्वारा रोगरोधी-जेरानियम के पौधे प्राप्त किये गये । इन अगुणित पौधों का उपयोग ताप व जैव-रसायन ग्राही उत्परिवर्तनों के वरण के लिए भी किया जाता है ।

(iv) प्रायोगिक अध्ययन में : अगुणित पादपों से समकुमी द्विगुणित लाइनों का विकास कर फसलीय पौधों की अधिक पैदावार, जल्दी पुष्पन व अधिक रोग प्रतिरोधी गुणों का वरण किया जाता है ।

(v) **कायिक फसलों का निर्माण करना :** इस प्रकार की फसलों में बीज या तो अनुपस्थित या बनाये ही नही जाते हैं । उदाहरणार्थ -आलू । परागकोष संवर्धन द्वारा आलू में जननक्षम द्विगुणित तथा चतुर्गुणित पौधें तैयार किये गये ।

(vi) **लम्बी अवधि की फसलों का निर्माण :** रोग-रोधी अगुणित पौधों से समयुग्मी द्विगुणित पादपों को एक बार प्राप्त कर लिया जाए तो यह प्रतिरोध आगे कई पीढ़ियों तक बना रहता है, क्योंकि वे समयुग्मी होते है जैसे -चाय, कॉफी, रबर इत्यादि ।

13.2.2 किस्मों का सुधार

फसल की किस्मों में सुधार एक निरन्तर चलने वाली प्रकिया है । इसमें जैव प्रौद्योगिकी ने महत्वपूर्ण योगदान दिया है । जैव प्रौद्योगिकी की निम्न तकनीकों द्वारा नई संकर किस्मों, नई किस्मों, समयुग्मी लाइनों इत्यादि का विकास किया जाता है ।

(i) भ्रूण संवर्धन (Embryo Culture) : परिवर्धित हो रहे बीजों से तरूण भ्रूणों का पृथक्करण कर पात्रे-संवर्धन द्वारा पादपकों की प्राप्ति को आ संवर्धन कहते है । साधारणतया अन्तरजातीय संकरों में आ का विकास कई कारणों से बाधित हो जाता है । जैसे- भ्रूणकोष का नष्ट होना, भ्रूण का निलम्बक क्षतिग्रस्त होना, आ का प्राथमिक अवस्था में नष्ट हो जाना इत्यादि । भ्रूण संवर्धन द्वारा कई संकर पौधे प्राप्त किये जा सकते है, उदाहरणार्थ - जी x राई, जौ x गेहूँ ।

(ii) अण्डाशय तथा बीजाण्ड संवर्धन (Ovary and Ovule Culture) : इस तकनीकी द्वारा कपास में रेशों के विकास में बढ़ोतरी प्राप्त की गई है । इण्डोल एसीटिक अम्ल व जिबरैलिक अम्ल, बीजाण्ड व रेशों के अभाव में वृद्धि करते है । अण्डाशय संवर्धन फैसिओलस कुकुमिस तथा टमाटर में किया गया है ।

(iii) बीजाण्डकाय संवर्धन (Nucellus Culture) : बीजाण्डकाय कोशिकाएँ सत्य मातृ कोशिकाएँ होती है तथा कायिक क्लोनीय संवर्धन के उपयुक्त होती है इसके पुर्नजनन द्वारा प्राप्त पादप मातृ पादपों के समान होते है । इस तकनीक का उपयोग बागवानी फसलों के क्लोनीय प्रवर्धन के लिए किया जाता है । जैसे-नींबू खरबूज, अगर इत्यादि ।

(iv) कायिक क्लोनीय विविधना (Somaclonal Variation) : पादप उतक संवर्धन के दौरान कोशिकीय विभाजन तीव्र गति से होता है । इस दौरान कई आन्तरिक व बाह्य कारकों के कारण कायिक क्लोनीय विविधना उत्पन्न हो जाती है ऐसे पौधे परिवर्त (variant) कहलाते है । कई फसलों में उन्नत गुणों वाले परिवतों का वरण किया गया है । जैसे -आलू चुकन्दर, तम्बाकू गेहूँ गन्ना, चावल एवं जी इत्यादि ।

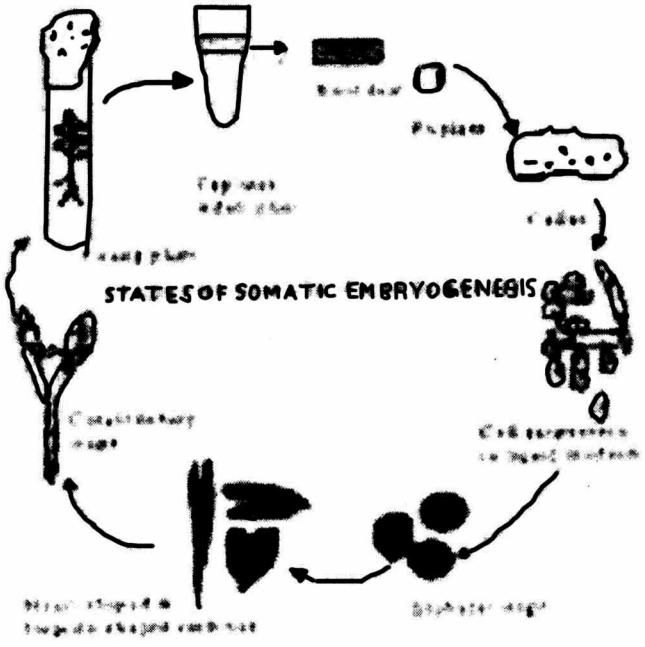
(v) भ्रूणपोष संवर्धन (Endosperm Culture) : आवृतबीजी पादपों के भ्रूणपोष की कोशिकाओं से पौधे विकसित किये जाते है । भ्रूणपोष त्रिगुणित होने के कारण इनमें अर्द्वसूत्री विभाजन नहीं होता है । तथा बिना बीज के फल (Seedless fruit) प्राप्त किये जा सकते है । त्रिगुणित पौधे पारम्परिक प्रजनन में भी उपयोगी है । जैसे - केला (3N), चावल, नाइजिला अंगूर इत्यादि ।

(vi) परागकोष संवर्धन (Anther Culture) : परागकोष या परागकण संवर्धन समयुग्मज लाइनों के विकास की एक सरल व त्वरित विधि है । इससे अगुणित व द्विगुणित समयुग्मी पौधे कम समय में तथा लम्बी अवधि के पौधे प्राप्त किये जा सकते है । उदाहरणार्थ -

- लम्बी अवधि की फसलें-चाय, कॉफी रबड़ ।
- कायिक प्रवर्धन वाली फसलें-आलू ।
- अगुणित से द्विगुणित समयुग्मी फसलें-मिर्च, टमाटर, सरसों, गेहूँ चावल, तथा बैंगन ।

(vii) कायिक भ्रूणजनन (Somatic embryogenesis) : कायिक कोशिकाओं से वृद्धि नियामक - रहित संवर्धन माध्यम पर पात्रे - संवर्धन द्वारा सीधे ही भ्रूण का निर्माण, कायिक भ्रूणजनन कहलाता है ।

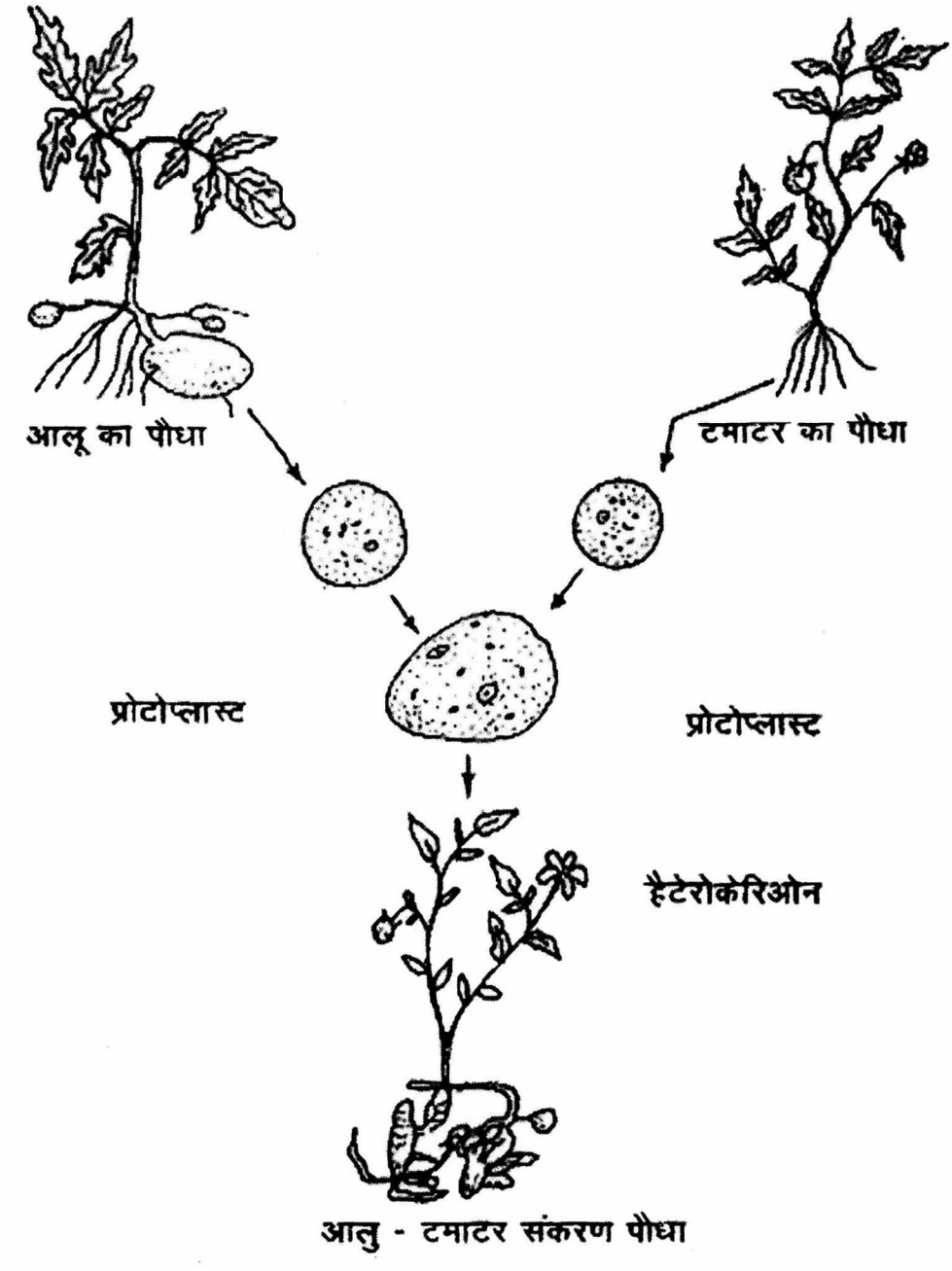
- कायिक भ्रूणजनन से कायिक बीजों के रूप में बहुत अधिक संख्या व कम समय में पादपकों का उत्पादन किया जाता है ।
- कायिक तो से कृत्रिम बीजों का निर्माण कर सीधे खेत में बोया जा सकता है ।



चित्र 2- कायिक भ्रूणजनन

(viii) कायिक संकरण (Somatic Hybridization) : कायिक कोशिकाओं या प्रोटोप्लास्ट (2n) का संगलन एवं संकर उत्पादन को कायिक कोशिका संगलन अथवा कायिक संकरण कहते है ।इस विधि से कई अन्तर एवं अन्त:जातीय संकर सोलेनेसी कुल के पौधों में बनाये गये । जैसे - धतूरा, पिटूनिया तथा तम्बाकू ।

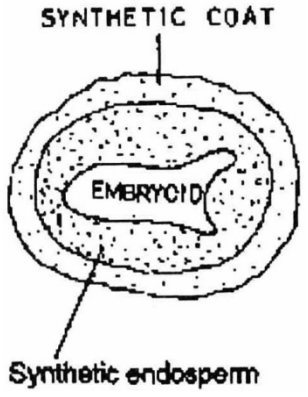
असम्बन्धित पादप जातियों के मध्य संगलन द्वारा कायिक संकर उत्पन्न किये जा सकते है, इन्हें असममित कायिक संकर कहते है उदाहरणार्थ- आलू प्र टमाटर, सोयाबिन x चावल इत्यादि।



चित्र-3 प्रोटोप्लास्ट संगलन द्वारा संकरण

13.2.3 कृत्रिम बीजों का निर्माण (Artificial seeds)

कायिक भ्रूणों का एगारोज अथवा कैल्शियम ऐल्जिनेट से संपुटन द्वारा कृत्रिम बीजों का निर्माण किया है । इस प्रकार किसी भी अन्तर या अन्त:जातीय कायिक संकरों से सीधे बीज तैयार किये जा सकते है । इन बीजों का खेतों में अंकुरण एक समस्या है, फिर भी ग्रीन हाऊस दशाओं में इन बीजों का अंकुरण किया जा सकता है । जैसे-एल्फा एल्फा



चित्र 4- कृत्रिम बीज

13.2.4 पराजीनी पौधों का निर्माण (Transgenic Plants)

जैव प्रौद्योगिकी द्वारा आनुवांशिक विविधता उत्पादन की सबसे अधिक सक्षम, शक्तिशाली तथा अद्वितीय विधि आनुवांशिक इंजीनियरी या पुनर्योगज DNA तकनीक द्वारा जीन स्थानान्तरण है । इस विधि से जो जीन स्थानान्तरित किये जाते है उन्हें पराजीन (Transgene) तथा इस प्रकार के पौधे जिनमें जीन स्थानान्तरित किया गया है, पराजीनी पौधे (Transgenic plants) कहलाते हैं । पराजीनी पौधों से फसलों को सुधारने की असीम संभावनाओं को मूर्त रूप मिला है । कृषि क्षेत्र में इस तकनीक को निम्न अनुप्रयोग है ।

(i) कीटरोधी पादप (Insect Resistant Plants) : कीट रोधी जीन को पादप कोशिका के जीनोम में स्थानान्तरित कर, कीट-रोधी पादप का निर्माण किया जाता है । उदाहरणार्थ - Bt-कपास ।

इसे बेसिलस धूरिजिऐसिस (Bt) नामक जीवाणु कोशिका तथा बीजाणु में इनके Bt-आविष जीन द्वारा Bt-प्रोटोक्सिन प्रोटीन बनाया जाता है । जब कीटों के लार्वा जीवाणु कोशिका तथा जीवाणु को खाते है, तो आहारनाल के एन्जाइम प्रोटोक्सिन को काट कर आविष (Toxin) उत्पन्न करते है व कीट लार्वा मर जाते है । जीवाणु के इस Bt-आविस जीन को जैव प्रौद्योगिक द्वारा कपास कोशिका में स्थानान्तरित कर कपास की कीट-रोधी किस्म उत्पन्न की गई है ।

(ii) बीज प्रोटीन गुणवक्ता : सामान्यतया धान्य फसलों में लाइसीन तथा दलहनों में मेथियोनिन तथा ट्रिप्टोफेन की कमी होती है इन्हें पराजीन स्थानान्तरण तथा अन्तर्जात जीन में उपयुक्त परिवर्तन करके सुधारा जा सकता है ।

(iii) विषाणु रोधिता (Virus resistance) : विषाणु के किसी जीन पौधों में स्थानान्तरित कर रोधिता उत्पन्न की जाती है । जैसे - आवरण प्रोटीन जीन, सेटेलाइट RNA की cCNA प्रति, प्रतिअर्थक RNA(Anit sense-RNA) तथा राइबोसोम जीन । इसमें TMV की कई जीनों को तम्बाकू टमाटर, चुकन्दर, आलू आदि में स्थानान्तरित किया गया ।

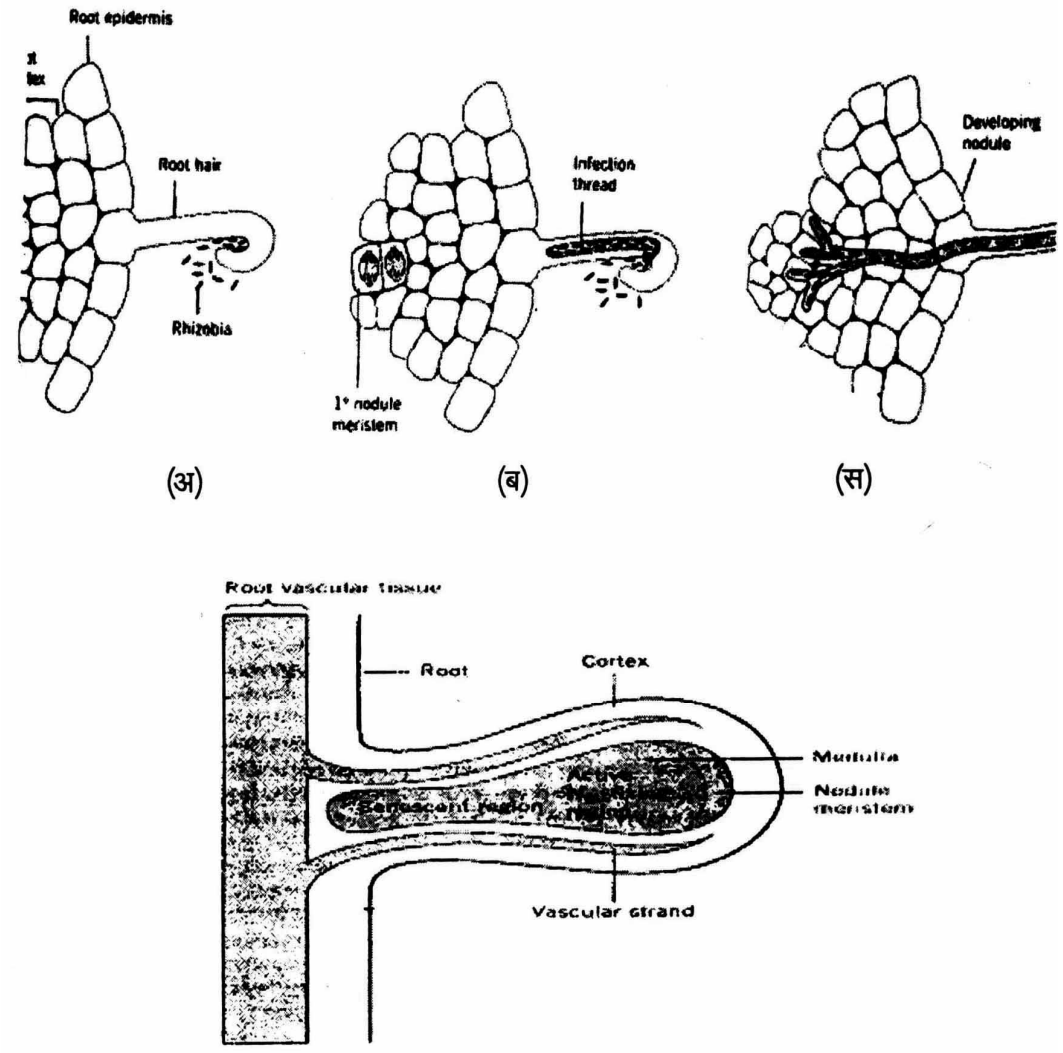
(iv) अन्तर्जात जीनों का दमन (Suppression of endogenous genes) : पौधों में उपस्थित अनावश्यक जीनों को घटाना या समाप्त करना लाभदायक होता है । जैसे -

- प्रतिअर्थक - RNA प्रौद्योगिकी - धीरे पकने वाले टमाटर ।
- वसीय अम्ल संगठन में परिवर्तन - ब्रैसिका नेपस एवं ब्रै.रेपा तथा कोको बटर का अन्य पराजीनी द्वारा उत्पादन ।
- अन्तर्जात जीनों का विदारण - जीन के भीतर ट्रान्सपोजोन के समाकलन करने से जीन निष्क्रिय करना ।

(v) खाद्य टीके (Edible vaccines) : पराजीनी पौधों के फल, कन्द या कोई अन्य भाग जिनमें किसी रोगजनक का कोई प्रतिजनी प्रोटीन उत्पादित एवं संग्रहित हो और जिसे मानव को खिलाने से उसमें संबंधित रोगजनक के लिये, रोधक्षमता उत्पन्न हो, खाद्य टीके कहलाते है । उदाहरण-हैजा आविस का टीका आलू में ।

(vi) नाइट्रोजन स्थिरीकरण वाले पराजीनी पादपों का विकास : कुछ जीवाणु (राइजोबियम, एजौटोबेक्टर) व नील-हरित शैवालें (एनाबीना, नॉस्टाक) स्वतन्त्र या सहजीवी रूप में वायुमण्डलीय नाइट्रोजन का यौगिकीकरण करती है । राइजोबियम जीवाणु तथा लैग्यूम परपोषी (Host) के बीच एक विशिष्ट सम्बन्ध होता है । ये जीवाणु पादप की जड़ों की गाँठों में रहकर पौधों सें कार्बोहाइड्रेट प्राप्त करते है । नाइट्रोजन यौगिकीकरण के लिये तीन विशिष्ट जीन समूहों की पहचान की गई है -

- नोड जीन (Nod gene) - पौधों की जड़ों में गुटिका 'दवकनसमद्ध का निर्माण करना ।
- निफ जीन (Nif gene) - नाइट्रोजन अणु को अमोनिया में स्थिरीकृत करना ।
- हप जीन (Hup gene) - नाइट्रोजन स्थिरीकरण के दौरान उत्सर्जित हाइड्रोजन का उदग्रहण करना ।



चित्र 5- सहजीवी जीवाणुओं द्वारा पादप की जड़ों में गुटिका निर्माण प्रक्रिया (चित्र - अ, ब, स) तथा परिपक्व गुटिका (चित्र - द)

जैव प्रौद्योगिकी की सहायता से अगर धान्य फसलों में निफ जीन स्थानान्तरित की जा सके तो बिना रासायनिक उर्वरक के व कम लागत के अन्न का उत्पादन बढ़ाया जा सकता है । इस तकनीक के विकास में फेसियोलिन (दलहन) के जीन को सूरजमुखी में स्थानान्तरित कर फेसियोलिन प्रोटीन का निर्माण किया गया ।

प्रौ. कॉकिग पोट्रिकस तथा प्रो. वासिल व उनके सहयोगियों द्वारा विसिया फाबा, तम्बाकू आदि की कायिक कोशिकाओं व प्रोटोप्लास्ट संगलन द्वारा निफ जीन के स्थानान्तरण पर आरम्भिक कार्य किया गया मगर आशिक सफलता ही मिली । भारत वर्ष में जैविक नाइट्रोजन स्थिरीकरण पर शोध कार्य मुख्य रूप से हरियाणा कृषि विश्वविद्यालय, हिसार. भारतीय कृषि अनुसंधान संस्थान, दिल्ली तथा भाभा परमाणु अनुसंधान केन्द्र, मुम्बई में हो रहा है ।

13.3 जैव प्रौद्योगिकी- चिकित्सा क्षेत्र में अनुप्रयोग

मानव स्वास्थ्य व आनुवांशिक रोगों के निदान के क्षेत्र में जैव-प्रौद्योगिकी का व्यापक प्रयोग किया जाता है । आधुनिक शोध का एक महत्वपूर्ण हिस्सा जैव-प्रौद्योगिकी है तथा इसे निम्न भागों में बांटा जा सकता है -

13.3.1 रोग निरोध (Disease prevention)

टीकों द्वारा रोग निरोध अत्यधिक सरल, सुविधाजनक, अत्यधिक प्रभावी व वांछित स्वास्थ्य रक्षण विधि है । टीके कई प्रकार के होते है जैसे

- **आदर्श टीका :** सुरक्षित, अरोगजनक (non-pathogenic), अनाविषालू (non toxic), पर्यावरण को संदूषित न करने वाला, दीर्द्यकालीन तरल (humoral) एवं कोशिकीय रोधक्षमता (Immunity) उत्पन्न करने वाला टीका । (अभी तक कोई भी टीका ऐसा नही है ।)
- **पारम्परिक प्रतिजन टीका :** सम्पूर्ण रोगजनक (मृत या जीवित) युक्त टीका । यह टीके अत्यधिक प्रभावी, कॉफी सस्ते व उत्पादन में अपेक्षाकृत असान है ।
- **शोधित प्रतिजन टीका** : किसी रोगाणु के प्रतिजन (antigen) को पृथक एवं शोधित करके इस रोगाणु के विरूद्ध टीके बनाये जाते है । इस प्रकार के टीके अत्यधिक सुरक्षित लेकिन अपेक्षाकृत महंगे होते हैं जैसे - मेनिन्जाइटिस (meningitis), निमोनिया (pneumonia) आदि ।

कुछ जीवाणुओं के प्रतिजन के साथ बहि:आविष (exotoxin) का उत्पादन होता है । अधिकांश बहि:आविष उपचार के बाद अनाविषालू (non-toxic) हो जाते है लेकिन उनकी प्रतिरक्षाजनकता ज्यों की त्यों बनी रहती है । ये टॉक्साइड (toxid) कहलाते है । उदाहरण - टिटनेस, डिप्थिरिया व गेंन्ग्रीन के टीके । उपरोक्त प्रकार के टीके बनानें की विधियाँ अधिक खचीर्ली तथा इनमें उग्र रोगजनकों के संदूषण की संभावना बनी रहती है इसलिए जैव प्रौद्योगिकी की विधि से तैयार टीके अधिक सुरक्षित, सक्षम व सस्ते होते है । ये निम्न प्रकार के है -

- **पुनर्योगज टीके (Recombinant Vaccines) :** पुनर्योगज DNA तकनीक द्वारा उत्पादित ऐसा टीका जिसमें रोगजनक (Pathogen) का ऐसा प्रोटीन या उस प्रोटीन को कोडित करने वाला जीन उपस्थित हो जो प्रतिरक्षाजनी (Immunogenic) एवं रोगजनक के लिए अपरिहार्य भी हो, पुनर्योगज टीका कहलाता है ।
- **पुनर्योगज पॉलीपेप्टाइड टीके (Recombinant Polypeptide Vaccines) :** कई रोगजनक प्रोटीन दो या अधिक पॉलीपेप्टाइडों के बने होते है । पुनर्योगज तकनीक द्वारा इन पॉलीपेप्टाइडों में से जो अधिक प्रतिरक्षाजनी अनाविषालु व रोग के लिए आवश्यक हो, उसे पृथक कर टीके के रूप में उपयोग किया जाता है । उदाहरण - मृत विब्रियों कॉलेरी (हैजा का रोगजनक) का मुख टीका (Oral Vaccines)

पुनर्योगज तकनीक द्वारा सूक्ष्मजीवों से पृथक व उत्पादित औषधीय महत्व के पुनर्योगज प्रोटीन

उत्पादन	सूक्ष्म जीव	अनुप्रयोग
1. इन्सुलिन (Insulin)	ई. कोलाई व यीस्ट	मधुमेह
2. मानव वृद्धि हार्मोन	ई. कोलाई	बौनापन (Dwarfism)
(Human Growth Hormone)		
3. इंटरफेरॉन	ई. कोलाई	वाइरस रोग, एड्स, कैंसर
4. हेपेटाइटिस-B सतह प्रतिजन	यीस्ट	हेपेटाइटिस- बी का टीका
5. गौ (Bovine) वृद्धि हार्मोन	ई. कोलाई	अधिक दुग्ध प्राप्ति
6. प्लैज्यिनोजेन सक्रियक (Plasminogen activator)	ई. कोलाई	थ्राबोलाइसिस
7. सुपरऑक्साइड डिस्म्यूटेस	ई. कोलाई	हृदय रोग उपचार एवं अंग' प्रत्यारोपण (Organ transplant)
8. तंत्रिका वृद्धि कारक (Nerve Growth factor)	ई. कोलाई व यीस्ट	परिधीय तंत्रिका रोग (peripheral neuropathies)
9. वयस्क हिमोग्लोबिन	ई. कोलाई	रुधिर प्रतिस्थापी (Blood substitute)
(Haemo globin adult)		अनुप्रयोग

- **DNA Vhds (DNA- Vaccines) :** पुनर्योगज DNA तकनीक द्वारा रोगजनकों के प्रतिरक्षाजनी प्रोटीन कोडित करने वाले जीन को पृथक कर तैयार किये गए टीके, DNA टीके कहलाते है । DNA टीके से DNA खंड को जिस शरीर में प्रवेश कराया जाता है वहाँ यह DNA प्रतिरक्षाजनी प्रोटीन को संश्लेषित करता है । उदाहरण - रेबीज विषाणु, पांव व मुख रोग विषाणु (Foot and mouth disease virus) टाइफाइड टीके, हेपेटाइटिस - बी विषाणु, हेजे के टीके आदि ।

13.3.2 रोग निदान (Disease Diagnosis)

जैव प्रौद्योगिकी द्वारा नई विधियों से रोगों का अचूक व जल्द निदान किया जा सकता है । इसके लिए मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी व डी.एन.ए. प्रोब के रूप में अत्यंत प्रभावी व संवेदनशील यंत्र विकसित किये गए है । प्रत्येक बीमारी के लिए विशिष्ट मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी या डी.एन.ए. प्रोब द्वारा रोग का पता शीघ्र लगाया जा सकता है ।

मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी के उपयोग -

- रूधिर समूहों की पहचान करना ।

- रोग जनकों की सुस्पष्ट पहचान करना ।
- अति आरम्भिक अवस्थाओं में केंसर की सुनिश्चित पहचान करना ।

DNA प्रोब, मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी की अपेक्षा अधिक संवेदनशील होती है । मलेरिया रोग के निदान हेतु डी.एन ए. प्रोब बनाई गई है ।

13.3.3 आनुवांशिक रोगों का निदान (Diagnosis of Genetic Diseases)

मनुष्य में आनुवांशिक रोग सामान्यत: अप्रभावी जीनों द्वारा उत्पन्न होते है । जैव प्रौद्योगिकी में दोष व्यक्ति के नमूनों का जीन-विश्लेषण किया जा सकता है । गर्भावस्था में शिशु की जाँचकर आनुवांशिक रोग का पता लगाया जा सकता है । दोष युक्त होने पर गर्भपात कराया जा सकता है । गुणसूत्र प्ररूप, विशिष्ट एन्जाइम उत्पादन तथा डी.एन.ए. का रेसट्रिक्शन स्थल प्रतिरूप विश्लेषण (Restriction site pattern analysis) विधियों द्वारा करीब 35 रोगों का पता लगाया जा सकता है ।

13.3.4 चिकित्सकीय औषधियों (Madicines)

रोगों के उपचार में अधिकांश दवाईयां रासायनिक संश्लेषण, जीवाणुओं, पौधों या जन्तुओं को मार कर प्राप्त की जाती है । जैव प्रोधोगिकी में पादप कोशिका संवर्धन, सूक्ष्मजीवों, जन्तु कोशिका संवर्धन तथा पुनर्योगज DNA तकनीक द्वारा औषधियाँ प्राप्त की जाती है ।

- **सूक्ष्मजीव (Micro Organisms :** औषधि के रूप में सूक्ष्मजीवों के बीजाणु, जीवभार (biomass) एक कोशीय प्रोटीन (Single cell protein), विटामिन, एंटीबायोटिक, एन्जाइम आदि प्राप्त होते है । कुछ प्रतिजैविक (Anibiotics) के स्त्रोत के गुण -

प्रतिजैविक पदार्थ	स्त्रोत	जिन पर प्रभावी होते है
पोली मिक्सिन	बेसिलस पोलिमिक्सा	ग्राम ऋणात्मक जीवाणु
बेसिट्रेसिन	बेसिलस सबटिलिस	ग्राम (+)ve जीवाणु
कैनामाइसिन	स्ट्रेप्टोमाइसिज कैनामाइसीटिकस	ग्राम (+)ve,(-) ve व माइक्रो बैक्टीरिया
नियोमाइसिन	स्ट्रेप्टोमाइसिज फ्रैडिई	ग्राम (+) ve व ग्राम (-) ve
क्लोरमफेनिकोल	स्ट्रेप्टोमाइसिज वेनेजुएला	ग्राम (+) ve जीवाणु व रेकट्सिया
स्ट्रेप्टोमाइसिज	स्ट्रेप्टोमाइसिज ग्रिसीअस	ग्राम (+) ve व ग्राम (-) ve जीवाणु
इरीथ्रोमाइसिन	स्ट्रेप्टोमासिज इरीथ्रिअस	ग्राम (+) ve जीवाणु
पेनीसिलिन	पेनीसिलिन क्राइसोजिनम	ग्राम (+) ve जीवाणु

- **पादप कोशिका संवर्धन (Plant Tissue Culture) :** पादप कोशिकाओं के संवर्धन द्वारा कुछ औषधीय उपयोग के यौगिक प्राप्त होते है जैसे - शिकोनिन बर्बरीन, टेक्साल आदि । इसके अतिरिक्त पराजीनी पौधों से भी विशिष्ट औषधियाँ उत्पादित की जा रही है । इस विधि को आण्विक खेती (molecular faming) अथवा आण्विक औषधिकरण (molecular pharming) कहते है । उदाहरण - हैजे का टीका, सिनेटिडीन जो अल्सर के उपचार में काम आती है ।

- **जन्तु कोशिका संवर्धन (Animal Cell Culture) :** जन्तु कोशिका संवर्धन द्वारा मुख्यतया: इंटरफेरॉन (-2 व -बीटा) प्राप्त होती है । पराजीनी जन्तुओं द्वारा 6-mercapto purine thioguanine जो केन्सर के उपचार में काम आती है, उत्पादित की जाती है ।
- **पुनर्योगज जीवों से प्राप्त औषधियाँ :** पुनर्योगज डी.एन.ए. तकनीक से किसी भी जीव के जीन को किसी अन्य जीव में स्थानान्तरित करके कई औषधि महत्व के प्रोटीनों का सूक्ष्मजीवों, जन्तु व पौधों में उत्पादन संभव हुआ है । ऐसे प्रोटीनों को पुनर्योगज प्रोटीन (recombinant protein) कहते है ।

सूक्ष्मजीवों व यीस्ट में मानव जीनों का क्लोनन करके औषधीय महत्व के प्रोटीनों का उत्पादन किया जा रहा है जैसे-इन्सुलिन, मानव वृद्धि हार्मोन, इंटरफेरॉन, इंटरल्यूकिन आदि । ये प्रोटीन मधुमेह, बौनेपन, केन्सर आदि के उपचार में काम आते है । पराजीनी पौधों में भी पुनर्योगज प्रोटीन जैसे हिरूडिन, ब्रैसिका नेपस का उत्पादन किया जाता हैं ।

13.3.5 विधि विज्ञान (Forensic Science)

एलेक जैफ्रेज (Alec Jeffreys) ने 1985-86 में DNA फिंगर प्रिटिंग विधि का विकास किया । इस तकनीक द्वारा किसी भी व्यक्ति के खून, वीर्य या बालों की जड़ों में से DNA को निकालकर इलेक्ट्रोफोरेसिस से पृथक किया जाता है । व्यक्ति विशिष्ट के DNA का क्रम अंगुली छाप की तरह विशिष्ट होता है जिससे उसकी पहचान हो जाती है । विधि विज्ञान में इस तकनीक का अत्यधिक प्रयोग किया जाता है -

- वैध या अवैध संतान का पता लगाना ।
- मृत अज्ञात व्यक्ति की पहचान करना ।
- अपराधी की पहचान करना ।
- आनुवांशिक रोग की पहचान करना ।

भारत में यह कार्य डी. लाल जी सिंह के नेतृत्व में CCMB (Centre for cellular and molecular Biology) हैदराबाद में होता है ।

13.3.6 जीन उपचार (Gene Therapy)

जीन उपचार में किसी आनुवांशिक रोग या किसी अर्जित विकार (acquired disorder) को ठीक करने के उद्देश्य से कोशिकाओं में संबन्धित जीन के सामान्य प्रकार्यात्मक विकल्पी (functional allele) को प्रवेश कराते है । इस पद्धति से कैंसर व AIDS उपचार में उपयुक्त इटंरल्यूकिन जीनों को प्रविष्ट कराकर प्रतिरक्षा तन्त्र को मजबूत कर सकते है ।

13.3.7 उर्वरता नियन्त्रण (fertility Control)

जनसंख्या बढ़ोतरी प्राकृतिक संसाधनों तथा पर्यावरण के क्षरण का प्रमुख कारण है । इस पर नियन्त्रण के लिए ऐसी गर्भ-निरोधक युक्तियॉ बनाई गयी है, जिनके कोई पार्श्व प्रभाव नहीं है । गर्भ-निरोधक टीके -

- **मानव कोरियोनिक गोनेडोट्रोपिन (LCG) :** स्त्रियों में आर्तव चक्र (menstrual cycle) को अपरिवर्तित कर गर्भ स्थापन रोकना ।
- **पुटिका प्रेरक हार्मोन (FSH) :** FSH के लिए विशिष्ट प्रतिरक्षियों को नर बंदरों में प्रवेश कराने से वे बक्स हो गए ।
- **विटामिन वाहक प्रोटीन** के लिए विशिष्ट प्रतिरक्षियों के उपयोग से इन प्रोटीनों की मात्रा घट कर भ्रूण को अस्वीकार कर देती है ।

13.4 सारांश (Summary)

जैव प्रौद्योगिक के अन्तर्गत जैविकीय घटकों से मानव उपयोग हेतु उत्पादों या सेवाओं का उत्पादन किया जाता है । कृषि के क्षेत्र में जैव प्रौद्योगिकी द्वारा मुख्यतया धान्य फसलों, दलहनी फसलों तथा घासों की किस्मों को अधिक उन्नत बनाया गया है । इसके अन्तर्गत परागकोष या परागकण संवर्धन द्वारा अगुणित पादप तैयार कर उन्नत किस्मों का विकास, विशुद्ध प्रजनन लाइनों, विषाणु मुक्त पौधों, कायिक फसलों तथा लम्बी अवधि की फसलों का निर्माण किया जाता है । इसके अतिरिक्त भ्रूण संवर्धन, अण्डाशय तथा बीजाण्ड संवर्धन, बीजाण्डकाय संवर्धन, कायिक क्लोनीय विविधता, भ्रूणकोष संवर्धन, परागकोष संवर्धन, कायिक भ्रूणजनन व कायिक संकरण द्वारा कई उन्नत संकर किस्मों का विकास किया गया है । कायिक भ्रूणों द्वारा कृत्रिम बीजों का निर्माण भी किया जाता है ।

जैव प्रौद्योगिकी के अन्तर्गत पुनर्योगज डी.एन.ए. तकनीक द्वारा कई पराजीनी पादप जातियाँ विकसित की गई है । जिसमें कीट-रोधी, उच्च प्रोटीन युक्त बीज, विषाणु रोधिता अर्न्तजात जीनों का दमन, खाद्य टीके तथा नाइट्रोजन स्थिरीकरण वाले पराजीनी पादपों का विकास किया गया है ।

चिकित्सा के क्षेत्र में भी जैव प्रौद्योगिकी का मानव स्वास्थ्य व रक्षा के लिए रोग निरोध, रोग निदान, आनुवांशिक रोगों के निदान, कई प्रकार की चिकित्सकीय औषधियों के उत्पादन, विधि विज्ञान, जीन उपचार तथा उर्वरता नियन्त्रण में व्यापक अनुप्रयोग किया जाता है ।

13.5 शब्दावली (Glossary)

1. **जैव-प्रौद्योगिकी (Biotechnology) :** वैज्ञानिक व अभियांत्रिकी ज्ञान का उपयोग जैविक क्रियाओं द्वारा लाभदायक उत्पादों के निर्माण में करना ही जैव-प्रौद्योगिकी है ।
2. **पूर्णशक्तता (Totpotency) :** एक पादप कोशिका या ऊतक का विभेदन व अंगीकरण द्वारा पूर्ण पादप में विकसित होने की घटना पूर्णशक्तता कहलाती है ।
3. **परागकोष संवर्धन (Anther Culture) :** उपर्युक्त पोष पदार्थ पर पादप के परागकोष के संवर्धन द्वारा अगुणित पादपों का विकास, परागकोष संवर्धन कहलाता है ।
4. **परागकण संवर्धन (Pollen Culture) :** एक परागकण संवर्धन द्वारा पूर्ण विकसित अगुणित पादप का निर्माण, परागकण संवर्धन कहलाता है ।
5. **भ्रूण संवर्धन (Embryo Culture) :** परिवर्धित हो रहे बीजों से तरूण; लवनदहद्ध भ्रूणों को निकाल कर पात्रे संवर्धन करके पौधों की प्राप्ति को भ्रूण संवर्धन कहते है ।

6. **अण्डाशय या बीजाण्ड संवर्धन (Ovary/ Ovule Culture) :** उपर्युक्त पोष पदार्थ पर सम्पूर्ण अण्डाशय या बीजाण्ड का संवर्धन कर पूर्ण अगुणित पादपक की प्राप्ति अण्डाशय या बीजाण्ड संवर्धन कहलाता है।
7. **कायिक क्लोनीय विविधता (Somaclonal Variation) :** पादप कोशिका तथा ऊतक संवर्धन के दौरान अन्तर्जात व बहिर्जात कारकों के कारण उत्पन्न विविधता कायिक क्लोनीय विविधता कहलाती है ।
8. **भ्रूणपोष संवर्धन (Endosperm Culture) :** त्रिगुणित पादपों के भ्रूणपोष को उपर्युक्त पोष पदार्थ में सवंर्धन से सीधे ही बिना बीज के फल युक्त पादपों की प्राप्ति भ्रूणपोष संवर्धन कहलाता है ।
9. **कायिक भ्रूणजनन (Somatic Embryogenesis) :** किसी कायिक कोशिका (Somatic cell) से भ्रूण के परिवर्धन को कायिक भ्रूणजनन कहते है ।
10. **कायिक संकरण (Somatic Hybridization) :** दो भिन्न जातियों या किस्मों की कायिक कोशिकाओं के संगलन (Fusion) से संकर पौधों की प्राप्ति को कायिक संकरण कहते हैं ।
11. **कृत्रिम बीज (Artificial Seed) :** कायिक भ्रूणों का एगारोज अथवा कैल्शियम ऐल्लिनेट से संपुटन द्वारा निर्मित बीज, कृत्रिम बीज कहलाते है ।
12. **पराजीन (Transgene) :** वह जीन जो पुनर्योगज DNA तकनीक द्वारा एक जीव से दूसरे जीव के जीनोम में स्थानान्तरित किया जाता है, पराजीन कहलाता है ।
13. **प्रति-अर्थक RNA (Anti Sense RNA) :** RNA का वह अनुक्रम जो -किसी पूर्ण कायिक RNA या उसके किसी भाग का पूरक हो, प्रति अर्थक RNA कहलाता है ।
14. **प्रतिजन (Antigen) :** वह यौगिक जो प्रतिरक्षाजनी के उत्पादन का उद्दीपन करता है, प्रतिजन कहलाता है।
15. **प्रतिरक्षाजनी (Antibody) :** B-लिस्फोसाइट्रस द्वारा संश्लेषित वह प्रोटीन जो किसी विशिष्ट प्रतिजन के विशिष्ट सतह का पहचान करती है । प्रतिरक्षाजनी कहलाती है ।
16. **पुनर्योगज DNA rduhdh (Recombinant DNA Technology) :** काइमेरीय जीनों के निर्माण एवं उनको वाहकों में समाकलित करना, पुनर्योगज DNA तकनीक कहलाती है ।
17. **मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी (Monoclonal Antibody) :** हाइब्रिडोमा तकनीक द्वारा हाइब्रिडोमा क्लोनो को पात्रे-संवर्धन करके प्रतिरक्षियों का उत्पादन करना, मोनोक्लोनीय प्रतिरक्षी कहलाती है ।
18. **प्रतिजैविक (Antibiotic) :** जीवाणुओं व कवकों से प्राप्त ऐसे रसायन जो किसी दूसरे रोगकारक जीवाणुओं की वृद्धि को रोकते हैं, प्रतिजैविक कहलाते है ।
19. **इंटरफेरॉन (Interferon) :** साइटोकाइन नामक प्रोटीनों के ऐसे समूह जो लक्ष्य-कोशिका की सतह पर उपस्थित विशिष्ट ग्राही (Specific receptor) अणुओं से जुड़ कर प्रभाव उत्पन्न करते हैं, इंटरफेरॉन कहलाते है ।

20. पुनर्योगज प्रोटीन (Reccombinant Protein) : पुनर्योगज DNA तकनीक द्वारा स्थानान्तरित व समाकलित जीन द्वारा निर्मित प्रोटीन, पुनर्योगज प्रोटीन कहलाता है ।

21. DNA अंगुली-छाप (DNA Finger Printing) : ऐसी तकनीक जिसमें किसी व्यक्ति विशेष के डी.एन. ए. के विशिष्ट अनुक्रम को इलेक्ट्रोफोरेसिस से पृथक कर वैसे ही विशिष्टता प्रदान करता है जैसे प्रत्येक व्यक्ति की अंगुली का छाप विशिष्ट होता है ।

22. जीन उपचार (Gene Therapy) : किसी आनुवांशिक रोग अथवा किसी अर्जित विकार (acquired disorder) को ठीक करने के उद्धेश्य से कोशिकाओं में सम्बन्धित जीन के सामान्य प्रकार्यात्मक विकल्पी को प्रवेश कराना, जीन उपचार कहलाता है ।

13.6 बोध प्रश्न

नोट : 1. प्रत्येक प्रश्न में खाली स्थान में अपना उत्तर लिखें ।
2. प्रश्नों के उत्तर इकाई के अन्त में दिये गए उत्तरों से मिलाऐं ।

प्रश्न 1 निम्नलिखित प्रश्नों के खाली स्थान की पूर्ति करो -

1. परागकोष संवर्धन द्वारा ..... पादप प्राप्त किये जाते हैं ।
2. त्रिगुणित पादपों का निर्माण ..... संवर्धन से प्राप्त किये जाते है ।
3. कृत्रिम बीजों का संपुटन ..... या ..... से बना होता है ।
4. Bt-कपास नामक पादप जाति..... रोधी है ।
5. ब्रैसिका नेपस से ..... पुनर्योगज प्रोटीन का उत्पादन किया जाता है ।
6. DNA-अंगुली छाप तकनीक की खोज..... ने की।

प्रश्न 2. बहुविकल्पी प्रश्न

1. परागकोष संवर्धन द्वारा सर्वप्रथम अगुणित पादप प्राप्त किये -
(अ) मुराशिरो व स्कूग (ब) प्रो. वासिल (स) गुहा व माहेश्वरी (द) प्रो. खुराना
2. रोगरोधी- जेरानियम के पौधे प्राप्त किये गए -
(अ) कायिक भ्रूणजनन द्वारा (ब) प्रोटोप्लास्ट संगलन द्वारा
(स) परागकोष संवर्धन द्वारा (द) कोई नहीं
3. हाइब्रिडोमा तकनीक से उत्पादन होता है -
(अ) DNA टीकों का (ब)खाद्य टीकों का (स)अगुणित पादपों का (द)कोई नहीं
4. भारत में अंगुलीछाप तकनीक से सम्बन्धित वैज्ञानिक है
(अ)डॉ. एस.के. सिंह (ब)डॉ.ए.के. शर्मा (स) डॉ. लाल जी सिंह (द) कोई नहीं
5. 6-मर्केप्टो प्यूरीन थायोगुआनिन किसके उपचार में काम आता है -

(अ) हैजा (ब) कैन्सर (स) AIDS (द) अल्सर

6. शिकोनिन बर्बरीन टेक्साल इत्यादि औषधियाँ प्राप्त की जाती है -

(अ) जन्तु कोशिका संवर्धन

(स) पादप कोशिका संवर्धन

(ब) सूक्ष्मजीवों सें

(द) उपरोक्त सभी में

प्रश्न 3 निम्नलिखित प्रश्नों का संक्षिप्त उतर दो

1. असममित कायिक संकर किसे कहते है?

.....

.....

2. CCMB का पूरा नाम क्या है?

.....

.....

3. कायिक भ्रूणजनन व कायिक संकरण में मुख्य अन्तर क्या है?

.....

.....

4. Bt-कपास नामक कीट प्रतिरोधी किस्म में Bt का पूरा नाम क्या है?

.....

.....

5. नोड जीन (Nod gene) का क्या कार्य है?

.....

.....

6. पराजीनी पौधे किसे कहते है?

.....

.....

13.7 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Books)

1. बायोटेक्नोलॉजी - ब्रह्म देव सिंह
2. Biotechnology- Fundamentals And Applications -- एस.एस.पुरोहित
3. Molecular Biology and Biotechnology - डॉ.के.जी.रामावत
4. A Text Book of Biotechnology - डॉ.आर.सी.दुबे
5. आनुवांशिकी एवं जैवतकनीकी - जी. एल. पारिख एवं विष्णुदत्त भट्टमेवाड़ा

13.8 बोध प्रश्नों के उत्तर

उतर 1 1. अगुणित

2. भ्रूणपोष
3. एगारोज या कैल्सियम एल्जिनेट
4. कीट
5. हिरूडिन
6. एलेक जेफ्रेंज

उतर 2 1. स
2. स
3. द
4. स
5. ब
6. स

उतर 3 1. असम्बन्धित पादप जातियों के मध्य संगलन द्वारा उत्पन्न कायिक संकर, असममित कायिक संकर कहलाता है ।
2. Centre for Cellular and Molecular Biology
3. कायिक भ्रूण जनन में कायिक कोशिका से सीधे भ्रूण का निर्माण तथा कायिक संकरण में कायिक कोशिकाओं के संगलन द्वारा संकर का उत्पादन किया जाता है ।
4. Bacillus thuringiensis
5. पौधों की जड़ों में गुटिका (Nodule) का निर्माण करना ।
6. पुनर्योगज तकनीक द्वारा बाह्य वांछित जीन को किसी पादप कोशिका में स्थानान्तरित करने पर उस कोशिका से विकसित पादप पराजीनी पादप कहलाता है ।

13.9 अभ्यास प्रश्न (Exercise Questions)

प्रश्न3 1. परागकोष संवर्धन द्वारा उन्नत किस्मों का विकास कैसे किया जाता है, उदाहरण सहित समझाइये?

प्रश्न 2 निम्न पर संक्षिप्त टिप्पणियाँ लिखिए -
1. विषाणु-मुक्त पादप
2. कायिक क्लोनीय विविधता
3. कृत्रिम बीज
4. कीटरोधी पादप
5. खाद्य टीके
6. पुनर्योगज टीके
7. अंगुली छाप तकनीक

प्रश्न 3 निम्न में अन्तर स्पष्ट कीजिए -

1. पुनयौगज प्रोटीन व पुनयौगज DNA
2. प्रतिजैविक व इंटरफेरॉन
3. पराजीन व प्रतिअर्थक-RNA
4. अण्डाशय संवर्धन व भ्रूणपोष संवर्धन

प्रश्न4 जैवप्रौद्योगिकी तकनीक का मानव रोगों के निदान में क्या महत्व है?

प्रश्न5 कृषीय पादपों की उन्नत किस्मों के निर्माण में जैव प्रौद्योगिकी के उपयोग उदाहरण सहित बताइये?

इकाई 14

जैव प्रौद्योगिकी- पर्यावरणीय एवं औद्योगिकी अनुप्रयोग (Biotechnology- Environmental And Industrial Applications)

इकाई की रूपरेखा

14.1 उद्देश्य

14.2 प्रस्तावना

14.3 जैव प्रौद्योगिकी का पर्यावरणीय अनुप्रयोग

- 14.3.1 अपशिष्ट व प्रदूषण उपचार
- 14.3.2 भूभण द्वारा उपचार
- 14.3.3 जलीय अपशिष्ट का वायवीय उपचार
- 14.3.4 जलीय अपशिष्ट का अवायवीय उपचार
- 14.3.5 जीवेतर यौगिकों का विघटन
- 14.3.6 पृष्ठ सक्रियक का निम्नीकरण

14.4 जैव प्रौद्योगिकी का औद्योगिकीय अनुप्रयोग

- 14.4.1 औद्योगिक सूक्ष्मजैविकी
- 14.4.2 सूक्ष्मप्रवर्धन
- 14.4.3 किस्मों का सुधार
- 14.4.4 अगुणित तथा समयुग्मज पौधे
- 14.4.5 विषाणु-मुक्त पौधे
- 14.4.6 द्वितीय उपापयज
- 14.4.7 छत्रक संवर्धन

14.5 सारांश

14.6 शब्दावली

14.7 बोध प्रश्न

14.8 संदर्भ ग्रंथ

14.9 बोध प्रश्नों के उत्तर

14.10 अभ्यासार्थ प्रश्न

14.1 उद्देश्य (Objective)

जैव प्रौद्योगिकी से मानव उपयोगी उत्पादों का व्यावसायिक स्तर पर उत्पादन किया जाता है । नवीन बायोटेक्नोलॉजी के अन्तर्गत अत्यन्त कठिन व जटिल प्रक्रियाओं जैसे पुनर्योगज DNA तकनीक, एन्जाइम तकनीक व एन्जाइम अभियान्त्रिकी आदि के उपयोग से कम लागत में से अधिक मूल्यवान उत्पादों का निर्माण किया जाता है । पर्यावरण व औद्योगिक क्षेत्र में सूक्ष्मजीवों, पादप व जन्तु संवर्धन तकनीक का महत्व निम्न बिन्दुओं के अन्तर्गत किया गया है ।

14.2 प्रस्तावना (Introduction)

पर्यावरण जैविक तथा अजैविक कारकों से मिलकर बना होता है । सभी जीव अपने अस्तित्व के लिए पर्यावरण के अजैविक कारकों पर निर्भर होते हैं । मानव पर्यावरण के तीनों प्रमुख अजैविक कारकों (जल, वायु एवं मृदा) से जीवन के लिए अनिवार्य पदार्थो / सुविधाओं का दोहन करता है । प्राकृतिक संसाधनों के अनियमित व अत्यधिक दोहन के बदले मानव पर्यावरण में अपशिष्ट (Wastes) एवं प्रदूषक (Pollutants) विसर्जित करता है, जो जल, वायु व मृदा की भौतिक व रासायनिक प्रकृति को क्षति पहुंचाते है । मनुष्य ने इस प्रदूषणकारी प्रभावों को निम्न दो प्रकार की क्रियाओं द्वारा काम करने का प्रयास किया है-

- कम प्रदूषण उत्पन्न करने वाली तकनीकों का विकास (बहि:स्त्राव पश्चात तकनीक)
- उत्पादन संक्रिया द्वारा पैदा किए गए प्रदूषण को घटाने या समाप्त करने वाली तकनीक का विकास (बहि:स्त्राव पश्चात तकनीक)

इस बहि:स्त्राव पश्चात् तकनीक को ही पर्यावरण जैव प्रौद्योगिकी कहा जाता है । जिसमें प्रदूषण घटाने के लिए जैविक कारकों का उपयोग किया गया है । पर्यावरण जैव प्रौद्योगिकी आज तेजी से उभरती हुई शाखा है जिसमें विभिन्न तकनीकों व क्रियाओं द्वारा प्राकृतिक व कृत्रिम अपघटनीय प्रदूषणों को या तो समाप्त / घटा दिया जाता हैं या किसी दूसरे कम हानिकारक पदार्थो में परिवर्तन कर दिया जाता है । वातावरण को स्वच्छ रखने के लिए वर्तमान में पूरे विश्व में जैव प्रौद्योगिकी का व्यवसाय 150 अरब डीलर तक पहुँच गया है ।

पिछले कुछ वर्षों में पादप ऊतक संवर्धन तथा उससे संबंधित जैव प्रौद्योगिकी के आधार पर औद्योगिक उत्पादन ने बड़ा आयाम ले लिया है । पूरा विश्व आज इस तकनीक द्वारा अधिक से अधिक पादपीय किस्मों को उन्नत करने तथा उससे आर्थिक लाभ कमाने पर केन्द्रित हो गया है तथा करीब 50-60 प्रतिशत हिस्सा कृषि से सम्बन्धित है । पादप जैव प्रौद्योगिकी की पारम्परिक विधियों पर वातावरणीय कारकों का कोई प्रभाव नहीं पड़ता है । इन तकनीकों को विश्व के किसी भी भाग पर उपयोग में लिया जा सकता है । उद्योगों के लिए कच्चा माल कम समय में अधिक उत्पादन व कम लागत पर उत्पादित किया जा सकता है । इस इकाई में वातावरण व उद्योगों में जैव प्रौद्योगिकी के अनुप्रयोगों का विस्तार से वर्णन किया गया है ।

14.3 जैव प्रौद्योगिकी का पर्यावरणीय अनुप्रयोग

जैविक कारकों का जैव प्रौद्योगिकी विधियों द्वारा उपयोग करते हुए पर्यावरणीय कार्बनिक व अकार्बनिक हानिकारक प्रदूषकों का पूर्ण अपघटन या कम हानिकारक पदार्थो में परिर्वतन कर पर्यावरण को स्वच्छ करना पर्यावरणीय जैव प्रौद्योगिकी कहा जाता है । वातावरण में कई प्रकार के प्रदूषक मानव द्वारा उत्सर्जित किये गए है, जिसे कम लागत व कम समय मे हटाने के लिए जैव तकनीकों का व्यापक उपयोग किया जा रहा है । पर्यावरण जैव प्रौद्योगिकी का निम्न बिन्दुओं के अन्तर्गत अध्ययन किया जा सकता है ।

14.3.1 अपशिष्ट व प्रदूषक उपचार (Wastes and Pollutant Treatment)

जब किसी उत्पाद (Product) उपउत्पाद (byproduct) या अवशिष्ट (residue) का लाभदायक, उपयोग संभव नहीं होता, वह अपशिष्ट कहलाता हैं तथा पर्यावरण को क्षति पहुँचाने वाले अपशिष्ट, प्रदूषक कहलाते है ।

अपशिष्ट तथा प्रदूषकों के मुख्य स्त्रोत औद्योगिक इकाईयाँ (मद्य, उद्योग, खाद्य प्रकरण), ऊर्जा उत्पादन इकाईयाँ हेडियोधर्मी अपशिष्ट), कृषि व डेरी उद्योग (पशुमल, उर्वरक, पीड़कनाशी एवं प्लास्टिक), परिवहन (हाइड्रोकार्बन, कालिख, सीसा) तथा घरेलू अपशिष्ट (मानव मल-मूत्र, कचरा) होते है । जैव प्रौद्योगिकी द्वारा उपरोक्त सभी प्रकार के अपशिष्टों व प्रदूषकों में काफी कमी लाई जा सकती है ।

अपशिष्टों में उपस्थित रासायनिक पदार्थ ठोस, द्रव व गैस के रूप में तथा अविषालु (toxic) या अनाविषालु (non-toxic) होते है । अधिकांश जीवेतर (xenobiotic) यौगिक जैव अपघटनीय नहीं होते हैं तथा ये जैव आवर्धन (biomagnification) प्रदर्शित करते हैं, जैसे - DDT फिनॉल आदि । कुछ भौतिक प्रदूषक जैसे धूल, आर्द्रता, विकिरण. यांत्रिक प्रतिबल (Stress), ध्वनि प्रदूषण आदि को जैविक ईंधनों के प्रयोग से काफी कम करने की तकनीक काम में ली जा सकती है ।

अपशिष्टों के उपचार के लिए निम्न मुख्य विधियाँ है -

1. **जैबफिस्टर (Biofilter) :** इस यंत्र द्वारा गैस व ठोस अपशिष्टों का सूक्ष्मजीवों की सहायता से विघटन या रूपान्तरण किया जाता है ।
2. **द्रव अपशिष्टों का उपचार :** सीवेज उपचार संयंत्रों में वायवीय या अवायवीय पाचन द्वारा द्रव अपशिष्टों का उपचार किया जाता है । इससे प्राप्त आपंक (sludge) या सीवेज आपंक (ठोस अवयव) को कृषि उर्वरकों के रूप में भी उपयोग किया जा सकता है ।
3. **ठोस अपशिष्टों का उपचार :** इन अपशिष्टों के जैव अपघटनीय एवं जैव-अनअपघटनीय अवयवों को अलग कर जैव अनअपघटनीय अपशिष्टों का पुन: उपयोग तथा जैव अपघटनीय अवयवों को जला देते हैं या अवायुवीय पाचन कर दिया जाता है ।

14.3.2 भूभरण द्वारा उपचार (Landfill Treatment)

ठोस कचरा एवं सीवेज आपंक को प्राकृतिक या मानव निर्मित गड्ढों में भर मिट्टी से ढक दिया जाता है । इस प्रकार भू-भरण से निकलने वाली मिथैन गैस को एकत्रित करके जैव गैस के रूप में उपयोग किया जा सकता है ।

14.3.3 जलीय अपशिष्ट का वायवीय उपचार

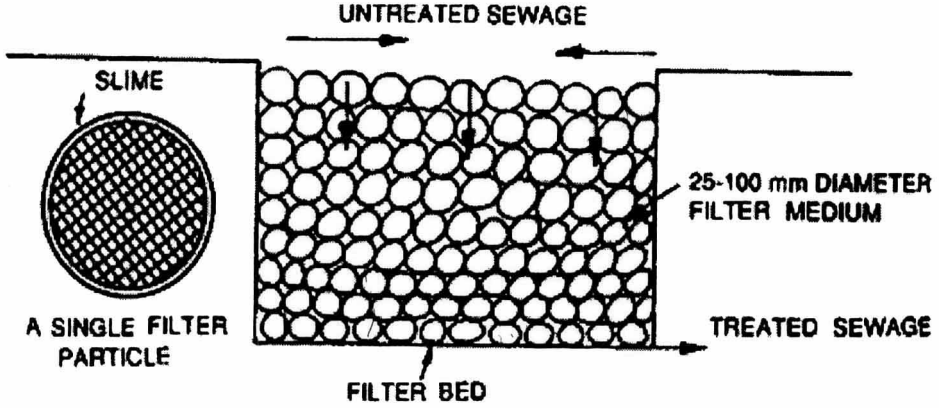
अपशिष्ट जल में 99-99.9 प्रतिशत जल तथा 0.1-0.5 प्रतिशत कार्बनिक व अकार्बनिक पदार्थ घुलनशील या निलम्बित अवस्था में पाये जाते हैं. । घरेलू अपशिष्ट जल में डिटर्जेन्ट, कीटनाशी प्रतिरोधी तथा औद्योगिक अनुपयोगी जल में तेल, धातुएँ, रासायनिक पदार्थ, डेयरी पदार्थ, कपड़े, कागज एवं वर्णक पदार्थ पाये जाते हैं । स्वच्छ पानी के स्त्रोतों में अपशिष्ट जल के मिल जाने पर उनमें सुपोषण (Eutrophication) की अवस्था उत्पन्न हो जाती है, जिसके परिणामस्वरूप जल में सूक्ष्मजीवों, पादपप्लवकों की अत्यधिक वृद्धि द्वारा जल ब्लूम बन जाते है।

अपशिष्टों के' वायवीय उपचार के लिए निम्न रिऐक्टर या संपाचित्रों का उपयोग होता है-

1. फिल्म संपाचित्र (Fixed film digester)
2. परिक्षिप्त वृद्धि संपाचित्र (dispersed growth digester)

1. बद्ध फिल्म संपाचित्र (Fixed film digester) : इनमें सूक्ष्मजीव फिल्टर कणों या बडी-2 चक्रिकाओं (discs) पर एक फिल्म के रूप में उपस्थित होते है । ये दो प्रकार के होते हैं -

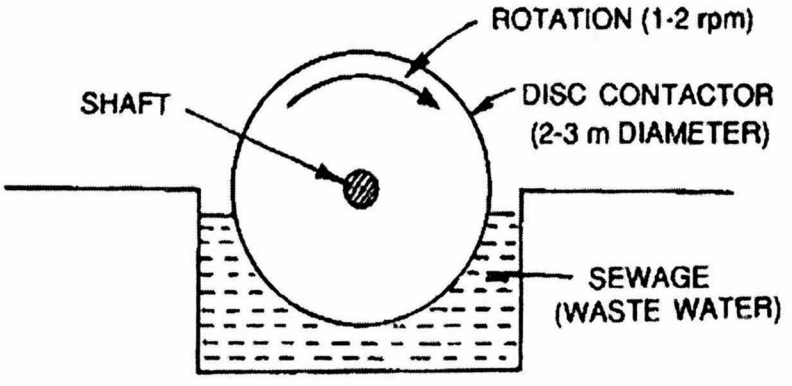
(i) च्यावी फिल्टर संपाचित्र (Trickling filter digester) : फिल्टर के गुटकों के चारो और सूक्ष्मजीवों द्वारा निर्मित एक जैव फिल्म होती है । विलग हुई जैव फिल्म उपचारित सीवेज के साथ वह कर अवसादन टैंक में ठोस पदार्थो के साथ सादित (settle) हो जाते हैं, ये ह्यूमस आपंक (Humus sludge) कहलाते है । इन फिल्टरों का उपयोग औद्योगिक अपशिष्टों के उपचार के लिए किया जाता है ।



चित्र 1- च्यावी फिल्टर संपाचित्र

(ii) घूर्णी जैविक संपर्कक (Rotating biological contactor) : इनमें जैव फिल्म चक्रिका की सतह पर उपस्थित होती है । चक्रिकाओं का एक भाग अपशिष्ट जल में डूबा रहता है

तथा चक्रिका के घूमने से जैव फिल्म का वातन (aeration) होता रहता है व घुले कार्बनिक पदार्थो का अपघटन होता रहता है।



चित्र 2- घूर्णी जैविक संपर्कक

2. परिक्षिप्त वृद्धि संपाचित्र (Dispersed growth digester) : इन संपाचित्रों में सूक्ष्मजीव उपचारित हो रहे पूरे सीवेज में फैले रहते हैं । द्रव अपशिष्ट लगातार पूर्व निर्धारित दर से आता रहता है व उपचारित जल उसी दर से बाहर निकल जाता है ।

सूक्ष्मजीव Micro organisms)

सूक्ष्मजीव संपाचित्रों में कार्बनिक पदार्थो के अपघटन के साथ-2 जीवभार (biomass) भी उत्पादित करते है । वायुवीय अपघटन में निम्न सूक्ष्मजीव पाए जाते है ।

(i) जीवाणु (Bacteria)

- जैव फिल्म एवं उर्ण (सिवबा) बनाने में अत्यन्त महत्वपूर्ण होते हैं । जैसे - जूग्लिया रैमिजेरा (zoogloea ramigera)
- सार्सिना (sarcina), स्थूडोमोनॉस (pseudomonas), एश्रिकिया (Escherichia) आदि द्वारा कार्बनिक पदार्थो का वायुवीय पाचन करना ।
- जल में अत्यधिक अमोनियम आयनों को नाइट्रेट (NO3-) में रूपान्तरित करना क्यों कि अमोनियम से नाइट्रेट कम आविषालु है । जैसे - नाइट्रोसोमोनास Eutrophication) एवं नाइट्रोबेक्टर Nitrobacter)
- जल में नाइट्रेट आयनों NO_3- की अधिकता से सुपोषण (Eutrophication) तथा शिशुओं में नील-शिशु (blue babies) दशा उत्पन्न हो जाती है । इसके लिए विनाइट्रीकारक (denitrifying) जीवाणु नाइट्रेट को N_2 रूपान्तरित कर जल का वायवीय उपचार करते हैं । जैसे - माइक्रोकॉकस (Micrococcus), स्थूडोमोनॉस (Pseudomonas), एक्रोमोबेक्टर (Achromohacter) आदि ।

(ii) फफूंद (fungi) : फफूँद जैव फिल्मों या उर्णो (Flocks) की सतह पर एक तह के रूप में शैवालों के साथ उपस्थित होती है । ये अपशिष्ट जल में उपस्थित नाइट्रोजन व फॉस्फोरस के लवणों तथा अन्य पोषक पदार्थो का अवशोषण कर जल को उपचारित करने में सहायक होते हैं ।

(iii) प्रोटोजोआ (Protozoa) : ये अपशिष्ट जल में उपस्थित कार्बनिक पदार्थो, पोषणों एवं जीवाणुओं का भक्षण कर छोटे कणों को बड़े कणों में रूपान्तरित करके सादन (setting) में सहायता करते हैं ।

(iv) वाइरस (Viruses) : अपशिष्ट जल में कुछ हानिकारक जीवाणु भी उपस्थित रहते हैं तथा ये अपशिष्टों के पाचन में बाधा पहुँचाते है । वाइरस इन जीवाणुओं का लयन कर संख्या में कमी करते हैं ।

14.3.4 जलीय अपशिष्ट का अवायुवीय उपचार

अवायुवीय पाचन सूक्ष्मजीवों की सहायता से सेटीक टैंकों में कई विधियों द्वारा किया जाता है । इन विधियों में सूक्ष्म जीवों की संख्या बढ़ाई जाती है ।

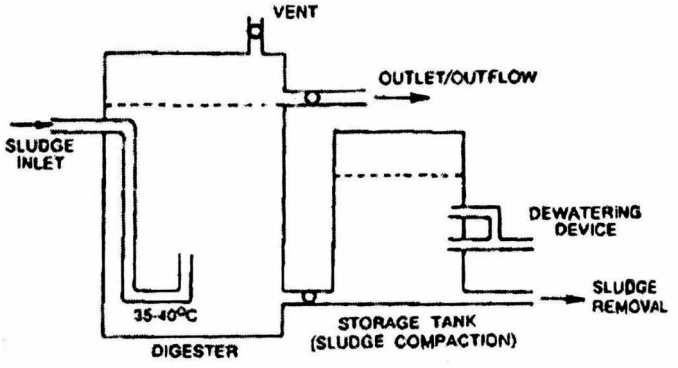
(i) सूक्ष्मजीव व अवायुवीय पाचन : इस प्रकार के पाचन में जीवाणु लिपिड, कार्बोहाईड्रेट व प्रोटीन से मिथेन व कार्बन-डाईऑक्साइड का उत्सर्जन करते हैं । इसके अतिरिक्त सूक्ष्म जैविकीय क्रियाएँ भी अपशिष्टों में सम्पन्न होती है ।

$\Leftrightarrow$ कार्बनिक पदार्थ + सल्फेट $\xrightarrow{\text{डिसल्फो विब्रओ}}$ ऑक्सीकृत कार्बनिक पदार्थ + सल्फाइड

$\Leftrightarrow$ कार्बनिक पदार्थ + नाइट्रेट $\xrightarrow{\text{विनाइट्रीकृत जीवाणु}}$ ऑक्सीकृत कार्बनिक पदार्थ + नाइट्रोजन

$\Leftrightarrow$ मिथेनजनी जीवाणु द्वारा CO_2 को मिथेन में अपचयित करना

(ii) आपंक उपचार (Sludge Treatment) : प्राथमिक व वायुवीय उपचार से प्राप्त आपंक को संपाचित्र टैंक व भण्डारण टैंक में उपचारित किया जाता है । उपचारित आपंक को खेती में उर्वरक के रूप में उपयोग किया जा सकता है ।



चित्र-3 - दो टैंकों वाली आपंक उपचार पद्धयती

14.3.5 जीवेतर (Xenobiotic) यौगिकों का विघटन

ऐसे यौगिक जो मानव द्वारा निर्मित होते है, प्रकृति में नहीं पाये जाते है, जीवेतर यौगिक कहलाते हैं । इन यौगिकों का भी विघटन हो सकता है, लेकिन अधिकतर जीवेतर यौगिक जैव अनअपघटनीय (non- biodegradable) तथा पर्यावरण में दीर्घ स्थायी होते है, इन्हें दुःसाध्य (recalcitrant) कहा जाता है ।

दु:साध्य जीवेतर यौगिकों के उदाहरण-हैलोकार्बन (DDT,BHC,2,4,5-T आदि) बहु क्लोरीनित द्विफिनाइल संश्लेषित बहु लक (प्लास्टिक व नाइलोन) कई पीडकनाशी, एलीफेटिक आदि । कीट एवं अन्य कई प्रकार के हानिकारक जीव जो फसलों व मानव को हानि पहुँचाते है । इन नाशक कीटों को नियन्त्रित करने के लिए वर्षों से नाशकमार (Pesticides) का प्रयोग किया जा रहा है जैसे - DDT एल्ड्रिन, क्लोरडेन हैप्टाक्लोर आदि । इन नाशकमारों के प्रयोग से मलेरिया. टाइफाइड, कोलेरा स्पोटेड बुखार आदि पर नियन्त्रण प्राप्त किया लेकिन इनके लगातार उपयोग ने पर्यावरण को बहु त अधिक हानि पहुँचाई है ।

जीवेतर यौगिक आसानी से निम्नीकरण (degradation) नहीं होने के कारण सूक्ष्मजीवों में संग्रहित हो जाते है तथा आसानी से खाद्य श्रृंखला (विवक chain) में प्रवेश कर, जैव-आवर्धन (Biological magnification) प्रदर्शित करते हैं । इन जीवेतर यौगिकों को पारिस्थितिकी तन्त्र से निम्न विधियों द्वारा हटाया जा सकता है -

(i) उपापचय द्वारा (By Metabolism) : इन जीनोबायोटिक पदार्थो का उपयोग सूक्ष्मजीवों की वृद्धि व ऊर्जा उत्पादन में किया जाता है । सूक्ष्मजीव इनका उपयोग कर उपापचय द्वारा पूर्व रूप से CO_2व HO_2 में परिवर्तित कर देते है । उदाहरण - डेलापोन (Dalapon) का निम्नीकरण । डेलापोन एक क्लोरिनेटेड वसा अम्ल है जो कि आथ्रोबेक्टर प्रजाति के जीवाणु द्वारा ऑक्सीकारी डीहेलोजीनेसन द्वारा पाइरूविक अम्ल में परिवर्तित कर दिया जाता है ।

(ii) सहउपापचय द्वारा (By co-metabolism) : सूक्ष्मजीव सहउपापचय द्वारा यौगिकों की आविषालु (toxicity) में वृद्धि या कमी करते हैं तथा इनका निम्नीकरण अन्य जीवों की क्रियाओं द्वारा किया जाता है । उदाहरण - नाशकमार के सहउपापचय

पदार्थ	परिवर्तित उत्पाद	सूक्ष्मजीव
क्लोर बेजिलेट	4,4 डाई क्लोर बेजों फीनोन	रोडोटोरूला ग्रेसिलिस
DDT	P,P-डाई क्लोर डाईफीनाइल मीथेन	एरोबेक्टर एरोजीनेस
P,P-डाई-क्लोर फिनाइल मीथेन	P- क्लोर फिनाइल एसीटेट	हाइट्रोजीनोमोनास
2,4,5-ट्राई क्लोर फिनाऑक्सी एसीटेट	3,5-डाई-क्लोर-2 हाइड्रोक्सी -म्यूकोनिक अम्ल	एकोमोबेक्टर

(iii) संयुग्मी निर्माण द्वारा (By Conjugate Formation): इनमें जीनोबायोटिक उत्पादों को प्राकृतिक पदार्थो जैसे अमीनो अम्ल या कार्बोहाइड्रेट्स के साथ संयुग्मो का निर्माण कर अस्थाई रूप से आविषालुता (tocicity) से बचाया जा सकता है । उदाहरण - डाई थिओकार्बेमेट कवकनाशी ।

(iv) संचयन द्वारा (By Accumulation) : सूक्ष्मजीव जीवेतर यौगिकों को अवशोषित कर आविषालुता अस्थाई तौर पर समाप्त करते हैं । समुद्री सूक्ष्मजीवी व प्लवक DDT का अवशोषण करते हैं । ये सूक्ष्मजीवी समुद्री जीवों द्वारा भक्षण करते है व DDT इन जीवों के ऊतक में संग्रहित हो जाता है । जैव प्रौद्योगिकी में ऐसी विधियाँ विकसित की जा रही

है जिससे सूक्ष्मजीवों द्वारा इन यौगिकों का जैविक निम्नीकरण आसानी से हो सके तथा जीवों द्वारा इनका उपयोग वृद्धि व ऊर्जा प्राप्ति के लिए किया जा सके । इसकी निम्न क्रिया विधियाँ है -

- **उत्परिवर्तन (Mutation) :** सूक्ष्मजीवों में उत्परिवर्तनों के कारण किसी एन्जाइम का सक्रिय स्थल (active) रूपान्तरित हो जाता है तथा जीवेतर यौगिक के लिए इसकी बन्धुता (affinity) बढ़ जाती है अथवा एन्जाइम उत्पादन का नियमन समाप्त हो जाता है । जिससे उत्पादन दर बढ़ जाती है । उत्परिवर्तनों द्वारा केवल जीवेतर यौगिक के अपघटन की दर बढ़ जाती है ।
- **प्लाज्मिड स्थानान्तरण (Transfer of Plasmid):** जीवेतर यौगिकों के अपघटन से सम्बन्धित जीन प्लाज्मिड में स्थित होते है । सूक्ष्मजीवों के मध्य संयुग्मन (conjugation) द्वारा ऐसे प्लाज्मिडों का स्थानान्तरण कर जीवेतर यौगिकों के अपघटन की क्षमता प्राप्त की जा सकती है । उदाहरण - Tol प्लाज्मिडों में टालुईन अपघटन ये संबन्धित जीन तथा PAC21 प्लाज्मिड में p-क्लोरोबाइफिनाइल के अपघटन से संबंधित जीन।
- **पुनर्योगज DNA तकनीक (Recombination DNA Technology):** इस तकनीक द्वारा सूक्ष्मजीवों के नये-2 प्रभेदों का निर्माण करना जो आसानी से जीवेतर यौगिकों का निम्नीकरण कर सके । उदाहरणार्थ- स्यूडोमोनास जीवाणु जो फीनोलिक योगिकों का जैविक निम्नीकरण करता है ।

(v) सूक्ष्मजीवों के मिश्रणों का उपयोग (Using Mixtur of Microbes)

- दो अलग-2 सूक्ष्मजीव किसी जीवेतर यौगिकों के आशिक रूप से लेकिन दोनों सूक्ष्मजीव मिलकर इसका पूर्ण विघटन कर सकते है । ऐसी स्थिति मे एक सूक्ष्मजीव के अघटन से प्राप्त उत्पाद दूसरे सूक्ष्मजीव के लिए क्रियाधार होता है।

  4 - क्लोरो बाई फिनॉल $\xrightarrow{\text{एसिनिटोबैक्टर स्पे}}$ 4 - क्लोरोबेन्तोएट

  4 - क्लोरो बेन्जोएट $\xrightarrow{\text{स्यूडोमोनासप्यूटिडा}}$ एसिटिक - Co.A+ सक्सिनेट

- मिश्रण में उपस्थित एक सूक्ष्मजीव दूसरे सूक्ष्मजीव के लिए आवश्यक वृद्धि कारक (Growth factor) या पोषक (nutrient) उत्पादित कर सकता है ।

  उदाहरण - नोकार्डिया जीवाणु साइक्लोहेक्सेन का अपघटन करता है, बायोटिन का उत्पादन नहीं कर पाता जो इसकी वृद्धि के लिए आवश्यक होता है लेकिन स्यूडोमोनास बाय टिन का उत्पादन तो कर लेता है, साइक्लोहैक्सेन का अपघटन नहीं कर पाता है।

- मिश्रण में धीमी वृद्धि दर वाली जीवाणु जाति के अपघटन संबन्धी जीनों के वाहक प्लाज्मिड का स्थानान्तरण उच्च वृद्धि दर वाली जातियों में हो सकता है ।

  उदाहरण - स्यूडोमोनास बी- 13 से प्लाज्मिड का स्थानान्तरण ऐल्कनीजीन्स जातियों में।

14.3.6 पृष्ठ सक्रियक का निम्नीकरण (Degradation of Surfactactants)

कुछ जलीय पादपों, जन्तुओं तथा मनुष्य द्वारा संश्लेषित कार्बनिक पदार्थ उत्पन्न किये जाते हैं जो झाग उत्पन्न करने का कार्य करते हैं । इन पदार्थो को पृष्ठ सक्रियक (Surfactants) कहते है । पृष्ठ सक्रियक जल के पृष्ठ तनाव, घनत्व व श्यानता को प्रभावित करते है । जल में प्रमुख रूप से अपमार्जक (Detergent) व साबुन पृष्ठ सक्रियक होते हैं।

वसीय पदार्थ व पेट्रोलियम पदार्थ भी पृष्ठ सक्रियक का कार्य करते है । कुछ जीवाणु पेट्रोलियम पदार्थो को विघटित करने की क्षमता रखते हैं पर यह क्रिया अत्यधिक मन्द होती है । समुद्रीय जहाजों के दुर्घटनावश कच्चा तेल समुद्र में वह जाता है, उससे समुद्र के हजारों जीव जन्तु अकाल मृत्यु के शिकार हो जाते है । अभी हाल में अमेरिका में पुनर्योगज डी.एन.ए. तकनीक द्वारा ऐसी जीवाणु प्रभेद विकसित किया गया है, जो पेट्रोलियम पदार्थो का निम्नीकरण कर सरल, छोटे व कम हानिकारक पदार्थो मे बदल देता है।

इस प्रकार जैव प्रौद्योगिकी का पर्यावरण के क्षेत्र में व्यापक उपयोग किया गया जाता है तथा पर्यावरण को स्वच्छ तथा इसको समुचित प्रबन्धन कर जैविक जगत को स्वच्छ रखा जा सकता हैं।

14.4 जैव प्रौद्योगिकी का औद्योगिकी अनुप्रयोग (Application of Biotechnology)

जैव प्रौद्योगिकी जिसमें ऊतक संवर्धन व उससे सम्बन्धित अन्य सभी तकनीकों के आधार पर औद्योगिकी स्तर पर उत्पादन शुरू हो गया है । पादप जैव प्रोद्योगिकी की पारम्परिक विधियों पर कई श्रेष्ठताएँ है जैसे वातावरण कारकों का कोई प्रभाव नहीं पड़ता तथा किसी भी स्थान पर उत्पादन किया जा सकता है । कई रसायनों का व्यापारिक स्तर पर उत्पादन सूक्ष्मजीवों का प्राकृतिक क्षमताओं के उपयोग से किया जाता है । जैसे एमीनो अम्ल, विटामिन, कार्बनिक अम्ल, इथेनाल आदि ।

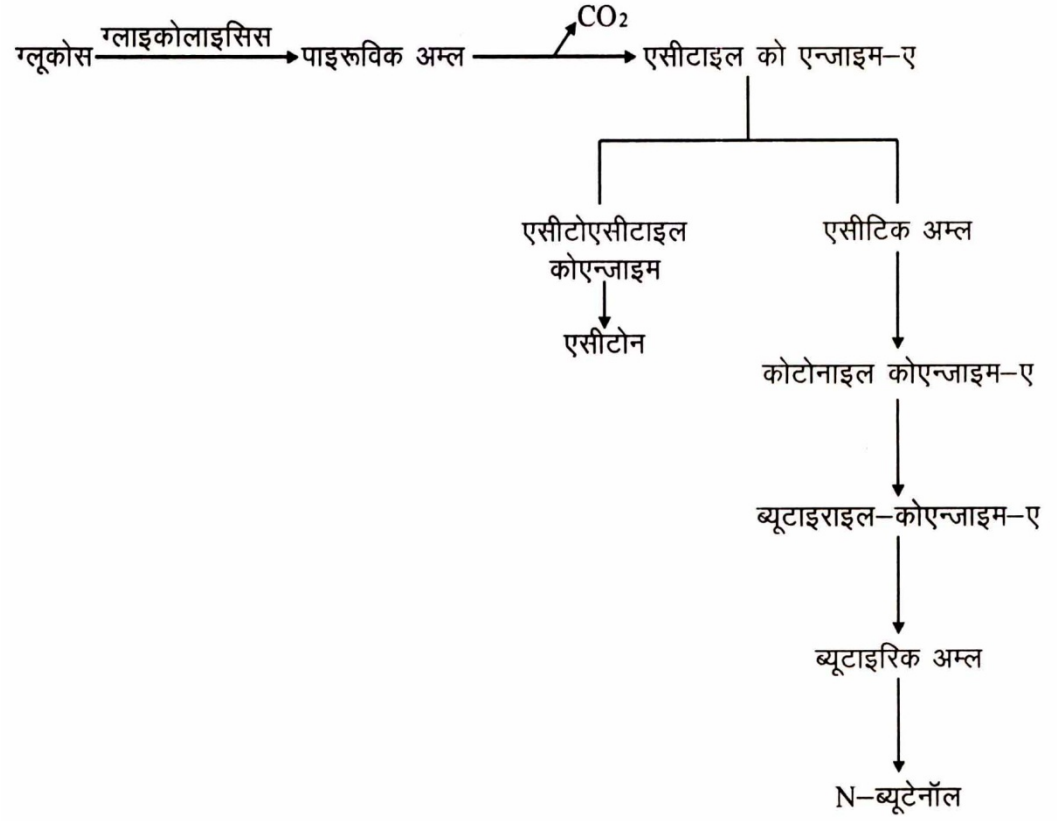
नवीन जैव प्रौद्योगिकी के अन्तर्गत पात्रे सवंर्धित (In vitro cultured) जंतु एवं पादप कोशिकाओं से उपयोगी उत्पादों की प्राप्ति, जीवों से प्राप्त एन्जाइमों का व्यापारिक उत्पादनों मे उपयोग किया जाता है । इस प्रकार जैव प्रौद्योगिकी में एक ओर सूक्ष्मजीवों के उपयोग से सस्ते एवं सुलभ पदार्थों क उपयोग करके अधिक उपयोगी एवं ज्यादा मूल्यवान पदार्थो का उत्पादन किया जाता है जैसे शर्करा से एल्कोहॉल आदि, तो दूसरी ओर अत्यन्त कठिन एवं जटिल प्रकियाओं जैसे पुनर्योगज (recombinant) DNA तकनीक, एन्जाइम तकनीक एवं एन्जाइम अभियान्त्रिकी आदि, के उपयोग से उत्पादों का निर्माण किया जाता है । उद्योगों में जैव प्रौद्योगिकी का अनुप्रयोग निम्न बिन्दुओं के अन्तर्गत किया गया है।

14.4.1 औद्योगिक सूक्ष्मजैविकी : औद्योगिकी सूक्ष्मजैविकी के विविध अनुप्रयोग निम्न है -

(A) उपापचयज उत्पादन (Metabolite Production) :

सूक्ष्मजीवों द्वारा क्रियाकारकों से कई मूल्यवान उपापचयजों का उत्पादन करते हैं ।

(i) ऐसिटोन-ब्यूटेनॉल (Acetone,Butanol) : क्लोस्ट्रीडियम एसिटोब्युटाइलिकम एक अवायुवीय जीवाणु है, जिसके विभिन्न प्रभेद आलू शीरा, मक्का आदि विविध क्रियाकारकों का उपयोग कर अवायुवीय संक्रिया द्वारा एसिटोन, ब्यूटेनॉल, इथेनाल आदि कई उत्पाद बनाता है । क्रियाकारकों में उपस्थित स्टार्च के जल-अपघटन (hydrolysis) से ग्लूकोस तथा ग्लूकोस से ब्यूटेनॉल एवं एसिटोन का उत्पादन होता है।



(ii) औद्योगिक एल्कोहॉल (Industrial Alcohol) : उद्योगों, प्रयोगशालाओं एवं ईंधन के रूप में ईथेनाल का प्रयोग किया जाता है । सूक्ष्मजीवों की सहायता से किण्वन संक्रिया द्वारा निम्न क्रियाकारकों से एल्कोहॉलों का उत्पादन बड़े पैमाने पर किया जाता है -

- शर्करा जैसे गन्ना, चुकन्दर, ज्वार, व गन्ने का शीरा ।
- धान्य जैसे - मक्का, गेहूँ ज्वार, आदि ।
- कंद (Tubers) जैसे आलू शकरकंद कसावा आदि ।
- सेल्यूलोज

ईथेनाल की प्राप्ति आसवन द्वारा करते है । किण्वन से निकले अपशिष्ट जल को खेत सींचने, मिथेन उत्पादन के लिए अवायुवीय पाचन या वाष्पन द्वारा सुखा कर पशु आहार, ईंधन या फुँदी जीवभार उत्पादन के लिए किया जा सकता है।

(iii) ऐंटीबायोटिक उत्पादन - ऐंटीबायोटिक प्रतिसूक्ष्मजीवी (antimicrobial) व प्रतिअर्बुदी (antitumour) प्रकृति के होते है । इसके स्त्रोत जीवाणु व फफूंद है तथा लगभग 100

एन्टीबायोटिकों का व्यापारिक उपयोग होता है । ये मानव, पशु तथा पादप रोगों के उपचार में काम आते है।

व्यापारिक स्तर पर उत्पादित कुछ एंटीबायोटिक निम्न है-

प्रतिजैविक पदार्थ	स्त्रोत	जिन पर प्रभावी होते है/ प्रकृति
पोली मिक्सिन	बेसिलस पोलिमिक्सा	ग्राम ऋणात्मक जीवाणु
बेसिट्रेसिन	बेसिलस सबटिलिस	ग्राम (+) ve जीवाणु
कैनामाइसिन	स्ट्रेप्टोमाइसिज कैनामाइसिटिकस	ग्राम (+) ve, (-)ve व माइक्रो बैक्टिरिया
नियोमाइसिन	स्ट्रेप्टोमाइसिज फ्रैडिई	ग्राम (+) ve ग्राम (-) ve
क्लोरमफेनिकोल	स्ट्रेप्टोमाइसिज वेनेजुएला	ग्राम (+) ve जीवाणु व रेकट्सिया
स्ट्रेप्टोमाइसिन	स्ट्रेप्टोमाइसिज ग्रिसीअस	ग्राम (+) ve व ग्राम (-) ve जीवाणु
इरीथ्रोमाइसिन	स्ट्रेप्टोमाइसिज इरीथ्रिअस	ग्राम (+) ve जीवाणु
पेनीसिलिन	पेनीसिलिन क्राइसोजिनम	ग्राम (+) ve जीवाणु
ट्राइकोमारसिन	स्ट्रेप्टोमाइसीन हैचिजोएन्सिस	प्रति फफूँदी
पॉलीमिक्सिन B	बैसिलस पालीमिक्सा	प्रति फंफूदी
पिमैरिसिन	स्ट्रेप्टोमाइसीन मैटालेन्सिस	प्रतिअर्बुदी
ऐफोटेरिसन B	स्ट्रेप्टोमाइसीन नोडोसस	प्रतिअर्बुदी

(iv) एन्जाइम उत्पादन (Enzyme Production): औद्योगिक स्तर पर उत्पादित एन्जाइम सूक्ष्मजीव की प्रजाति पर निर्भर करता है । सभी जैविक प्रौधोगिकी क्रियाऐं एन्जाइमों पर आधारित होती हैं । शोधित एन्जाइमों का उपयोग उद्योगों, दवाओं, शोध आदि में किया जाता है । इनका सालाना व्यापार लगभग एक अरब अमेरिकी डीलर होता है । सूक्ष्मजीव, पादप व जन्तु इन एन्जाइमों के प्रमुख स्त्रोत है।

एन्जाइम	स्त्रोत	अनुप्रयोग
जन्तु एन्जाइम		
केटेलेज (catalase)	यकृत	खाद्य
लाइपेज (Lipase)	अग्न्याशय	खाद्य
रेनेट/काइमोसिन	अग्न्याशय	पनीर
ट्रिप्सिन (trypsin)	अग्न्याशय	चमड़ा
पादप एन्जाइम		
α .एमाइलेज	माल्टिज जौ	निसवन (brewing)
β. एमाइलेज	माल्टिज जौ	निसवन (brewing)
फिसिन (ficin)	अंजीर लैटेक्स	खाद्य
पपैन (papain)	पपीता लैटेक्स	मांस
जीवाणु एन्जाइम		
α -व β एमाइलेज	बेसिलस	स्टार्च

प्रोटिएस	बैसिलस	डिटरजेंट
पेनीसिलीनेज	बैसिलस सीरीयस	औषधि
पेनीसीलिन एमाइडेस	बैसिलस	औषधि
ग्लूकोस आइसोमिरेज	एक्टिनोप्लेनीज	फ्रक्टोस सिरप
फंफूद एन्जाइम		
इनवर्टेस	सैकेरोमाइसीज सेरेवाइसी	मिष्ठान
इन्वर्टेस	से. फ्रेजाइलिस	मिष्ठान
प्रोटीएज, लाइपेज, एमाइलेज	ऐस्परजिलस ओराइजी	भर्जन (baking)
एमाइलेज प्रोटीएज, पेक्टनेस		
ग्लूकोस, ऑक्सीडेज	ऐ. नाइजर	स्टार्च
रेनेट	म्यूकर माइहेई	पनीर
लैक्टेज गैलेक्ओसाइडेज	ल्युवेरोमाइसीज	दुग्ध

इन एन्जाइमों का मुख्य उपयोग खाद्य प्रसंस्करण (food processing), चर्म उद्योग, ऊन उद्योग, ग्लूकोस उत्पादन, खाद्य, डेरी एवं पेच उद्योग, औषधीय उद्योग इत्यादि में होता है ।

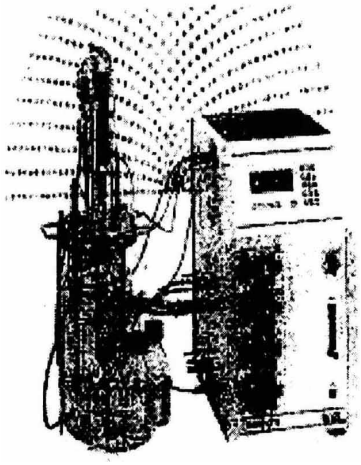
(v) जैव संवेदक (Biosensor) : वर्तमान में जैव संवेदक का संभावित व्यापार 25 अरब अमेरिकी डॉलर से भी अधिक है जिसका 30 प्रतिशत मानव स्वास्थ्य के क्षेत्र में है । जैव संवेदक किसी जैव पदार्थ की सहायता से किसी घोल में दिये गए विश्लेषक (analyte) विशेष की मात्रा ज्ञात करने वाली विश्लेषिक युक्तियाँ (analytical devices) है । जैव संवेदक के रूप में एन्जाइमों न्यूक्लिक अम्लों, प्रतिरक्षियों, लेक्टिनों सम्पूर्ण कोशिकाओं, सम्पूर्ण अंगों तथा ऊतकों का उपयोग किया जाता है।

(B) विभेद सुधार (Strain Improvement)

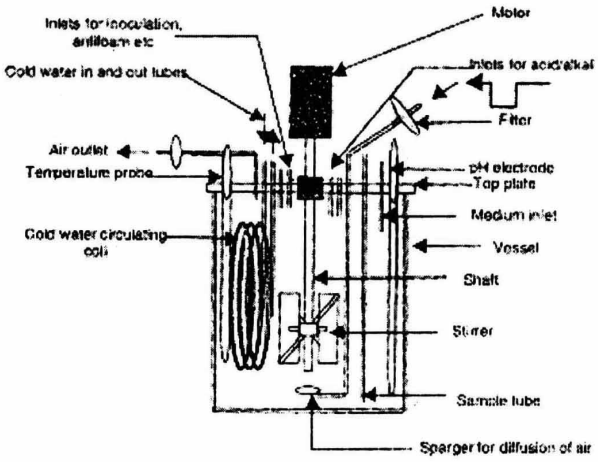
सूक्ष्मजीवों में आनुवांशिक परिवर्तनों के द्वारा उसकी उत्पादकता बढ़ाने को प्ररूप/विभेद सुधार कहते है । ये परिवर्तन निम्न प्रकार से किये जा सकते है -

- **उत्परिवर्ती वरण:** किसी जीव के किसी लक्षण में आकस्मिक एवं वंशागत परिवर्तन द्वारा विभेद सुधार ।
- **पुनर्योगज (Recombination):** विभिन्न प्रभेदों में उपस्थित जीनों में नए संयोजनों को उत्पन्न कर वांछनीय विकल्पियों को एक साथ एक विभेद मे एकत्र कर विभेद सुधार करना ।
- **पुनर्योगज DNA तकनीक:** इस तकनीक द्वारा पुनर्यौगज प्रोटीनों का उत्पादन व सूक्ष्मजीवों के उपापचय पक्षों मे परिवर्तन करके नए या रूपान्तरित उत्पादों की प्राप्ति या उत्पादकता में वृद्धि की जाती है । इसके लिए वांछित जीन स्थानान्तरण द्वारा नए विभेद उत्पन्न किये जाते है ।

(C) जैव-रिएक्टर (Bioreactors) ऐसी युक्ति या पात्र जिसमें निम्न मूल्य के क्रियाकारको से सूक्ष्मजीवों, एन्जाइमों, पादप कोशिका या कैलस संवर्धन द्वारा अधिक मूल्यवान उत्पादों में रूपान्तरण किया जाता है, जैव रिएक्टर कहलाता है ।



चित्र 4- विदोलक टंकी



चित्र 5- विदोलक टंकी जैव रियेक्टर का रेखाचित्र

इन जैवरिएक्टरों का उपयोग खाद्य प्रसंस्करण (Food processing), किण्वन, अपशिष्ट उपचार, द्वितीयक उपापचयज उत्पादन में किया जाता है । सूक्ष्मजीवी प्रौद्योगिकी में जैव रिएक्टरों द्वारा मशरूम उगाना, पनीर पक्वन, कार्बनिक अम्लों का उत्पादन, एमीनो अम्लों का उत्पादन, ऐंटिबायोटिक उत्पादन किया जाता है।

(D) जैव रूपान्तरण (Biotransformation)

बर्हिजात (exogenous) यौगिकों का पादप कोशिकाओं या सूक्ष्मजीवों द्वारा रूपान्तरण (modification) जैव-रूपान्तरण कहलाता है । जैव रूपान्तरण द्वारा कम मूल्य के क्रियाकारको से अधिक मूल्यवान उत्पादों का निर्माण किया जाता है । पादप व जन्तु कोशिकाओं द्वारा यह प्रक्रिया बहुत मंद लेकिन सूक्ष्मजीवों द्वारा तीव्र वृद्धि एवं उच्च क्रियाशीलता के कारण अधिक वांछनीय है । जैव रूपान्तरण ऑक्सीकरण, अपचयन (reduction), जल अपघटन (Hydrolysis), हाइड्रोक्सिलीकरण (Hydroxylation) तथा समावयीकरण (Isomerisation) द्वारा होता है । जैव रूपान्तरण का व्यावसायिक स्तर पर सर्वप्रथम उपयोग डिऑक्सी कार्टिकोस्टेरोन को बैल के एड्रिनलों द्वारा कार्टिकोस्टेरोन में रूपान्तरण के लिए किया गया लेकिन अब अधिक दक्ष सूक्ष्मजीवों द्वारा किया जाता है । जैसे क्सार्बिटाल से सार्बिटाल में, ऐंटिबायोटिकों तथा स्टेराइडों का जैव-रूपान्तरण।

(E) धातु प्राप्ति (Recovery of Metals)

सूक्ष्मजीवों का उपयोग अयस्कों, भारी धातुओं के घोलों से धातुएँ प्राप्त करने में किया जाता है । जैसे-थायोबैसिलस फेरोऑक्सिडैन्स थायौबैसिलस एसिडोफिलस एवं था. आर्डोनोपेरस जीवाणु अति निम्न pH पर अपनी आवश्यक वृद्धि हेतु अयस्कों से जिंक, कॉपर, लोहा आदि सल्फाइडों का धातु सल्फेटों में ऑक्सीकरण कर ऊर्जा प्राप्त करते है । था. फेरोऑक्सिडैन्स का कनाडा में 1960 से यूरेनियम प्राप्ति तथा दक्षिण अफ्रीका में स्वर्ण प्राप्ति के लिए उपयोग किया जा रहा है । इसके अतिरिक्त कई जीवाणु (बैसिलस. स्ट्रेप्ट्रोकॉकस, प्रोटियस आदि) व नील हरित शैवालों की सतहों पर धातुएँ अधिशोषित (adsorb) और अवशोषित होती है । उदाहरणार्थ- राइजोपस एराइजस के कवकजाल द्वारा यूरेनियम का एकत्रण ।

(F) जैव नियंत्रण (Biological Control)

सूक्ष्मजीवों द्वारा कीटों, खरपतवारों एवं रोगों का नियंत्रण, जैव नियन्त्रण कहलाता है । सूक्ष्मजीवों के जैव नियन्त्रण कारक के रूप में निम्न उपयोग है ।

- **जैव कीटनाशी (Bioinsecticides) :** कीटों को नियन्त्रित करने के लिए उपयोग किए जाने वाले सूक्ष्मजीव, जैव कीटनाशी कहलाते है । बैसिलस थुरिजिएंसिस के बीजाणु में निर्मित किस्टल प्रोटीन को किण्वित्रों में वर्धित कर रासासनिक कीटनाशियों या कवकनाशियों (Fungicides) के साथ मिलाया जाता है । न्यूक्लियोपॉलीहेड्रोसिस (NPV) वाइरस, हैलिकोवर्पा आर्मिजेरा कीट के नियन्त्रण तथा ग्रेनुलोसिस वाइरस (GV) का उपयोग स्पोडोप्टेरा लिगूरा के नियन्त्रण के लिए व्यापारिक उपयोग किया जाता है ।
- **जैव खरपतवारनाशी (Bioherbicides) :** इसके लिए कवकों का उपयोग किया जाता है । इनका बड़े पैमाने पर उत्पादन व व्यापारिक उपयोग किया जा रहा है ।
  उदाहरणार्थ-फाइटोप्थोरा पामीवोरा एवं कोलेटोट्राइकम ग्लियोस्पाइरोडस
  जैव नियन्त्रण कारक -

सूक्ष्मजीव	लक्ष्य जीव	उत्पादन संक्रिया
कीट नियन्त्रण (Insect control)		
1. वाइरस (Viruses)		
– न्यूक्लियोपॉलीहेड्रोसिस वाइरस (NPV)	गोलक षलभ, कपास	हीलियोथिस के लार्वा में।
– ग्रेनुलोसिस वाइरस (GV)	पर्ण-कृमि, पतागोभी, लूपर के लार्वा।	
2. जीवाणु (Bacteria)		
– बैसिलस थूरिजिएंसिस	लेपिडोप्टेरा व डिप्टेरा के लार्वा, तिलचट्टे व मच्छर।	किण्वन
– बैसिलस स्फेरिकस	मच्छर के लार्वा	किण्वन
3. कवक (fungi)		
– ब्यूवेरिया	भृंग, इल्ली आदि	किण्वन
– वर्टिसिलियम लैकेनियाई	एफिड, श्वेता	किण्वन
– मेटाराइजियम ऐनिसोप्लिई	पानुफुदक, भृंग, मच्छर	किण्वन

- **रोग नियन्त्रण (Disease Control) :**
  रोग नियन्त्रण के लिए जीवाणु व कवकों का व्यापारिक उपयोग किया जा रहा है । जैसे ट्रोइकोडर्मा विरिडी कवक का उपयोग पौधों में मृदा-वाहित (soil born) कवक रोगजनकों के विरूद्ध किया जाता है। बैसिलस थुरिजिएंसिस व एग्रोबैक्टीरियम रेडियोबेक्टर जीवाणुओं के पुनर्योगज तकनीक द्वारा पराजीनी पादपों का विकास कर कीटरोधी पादपों का व्यापारिक उत्पादन बड़े पैमाने पर किया जा रहा है ।

(G) जैव उर्वरक (Biofertilizers)

जिन सूक्ष्मजीवों का उपयोग पौधों के पोषकों के रूप में किया जाये, वे जैव उर्वरक कहलाते है । जैसे- जीवाणु, कवक व नील हरित शैवाल । निम्न प्रकार के सूक्ष्मजीवों का व्यापारिक स्तर पर प्रयोग किया जाता है ।

- राइजोबियम स्पे.- ये जीवाणु लेग्यूम पौधों की जड़ों में सहजीवी रूप में रहकर गुटिकाओं का निर्माण करते है तथा वायुमण्डलीय नाइट्रोजन को नाइट्रोजनी यौगिकों में परिवर्तित करती है । उदाहरण - राइजोबियम लेग्यूमिनोसेरम मटर में, रा. फैसियोली फैसियोलस स्पे. में, रा. ट्राइफोलियाई ट्राइफोलियम में गांठे बनाते है।
- एजोटोबैक्टर व एजोस्पिरिलम - एजोटोबैक्टर मृदा में तथा एजोस्पिरिलम ग्रैमिनी कुल के पौधों की जड़ों में रहकर नाइट्रोजन यौगिकीकरण करते हैं ।
- नील-हरित शैवाल एवं एजोला - नील हरित शैवालें (सायनोबेक्टिरिया) स्वतन्त्र या सहजीवी रूप में रहकर कायिक कोशिकाओं या विशिष्ट कोशिका जैसे हेटेरोसिस्ट द्वारा नाइट्रोजन - यौगिकीकरण करती है।

  एजोला (फर्न) में सहजीवी शैवाल के रूप में एनाबीना एजोली रहकर N_2- स्थिरीकरण करती है । तथा धान के खेतों में एजोला को जैव उर्वरक के रूप में अधिक उपयोग में लिया जाता है । नील-हरित शैवालों को छोटे-2 टैंकों या खुले नालों में संवर्धन किया जाता है। फिर इनको छानकर, सुखा कर सीधे ही खेतों में 10 किलो/ हैक्टेयर की दर से संरोपण किया जाता है ।

14.4.2 सूक्ष्मप्रवर्धन (Micropropagation)

ऊतक संवर्धन विधि से कर्तौतकों (explants) का उपयोग कर कायिक या वानस्पतिक प्रबंधन द्वारा बहुत छोटे-2 पौधों का उत्पादन करना, सूक्ष्म प्रवर्धन कहलाता है । इससे मुख्य रूप से सजावटी पौधों, फलों (केला आदि) तथा मसालों (इलाइची) का प्रवर्धन किया जा रहा है । पादप ऊतक संवर्धन से सूक्ष्मप्रवर्धन पर आधारित कई औद्योगिक इकाईयाँ कई देशों में स्थापित हो चुकी है ।1970 में सूक्ष्मप्रवर्धन के साथ ही अमेरिका में पादप ऊतक संवर्धन की वाणिज्यिक इकाई स्थापित हुई।

देश	व्यावसायिक इकाईयाँ	प्रतिवर्ष उत्पादित पौधों की संख्या (करोड़ों मे)
अमेरिका	100	15-30
पश्चिम यूरोप	248	21.2
नीदरलैन्ड	67	6.2
जर्मनी	24	0.1-05
भारत	75	19

सूक्ष्म प्रवर्धन अंग विकास, क्लोनन प्रवर्धन, कायिक भ्रूणजनन तथा जैवरिएक्टर विधियों द्वारा पादपों का औद्योगिक स्तर पर उत्पादन किया जाता है । निम्न उत्पादों का निर्माण व्यावसायिक स्तर पर इसी विधियों से किया जाता है -

- पुष्पोत्पादन (Floriculture) आर्किड, चमेली, हैलीकोनिया आदि ।
- सब्जियों का उत्पादन- टमाटर, आलू फूलगोभी, मिर्च, चुकन्दर व एस्परागस ।
- शक्कर का उत्पादन- गन्ना व चुकन्दर ।
- रेशों का उत्पादन-कपास व जूट ।
- तिलहनी फसलों का उत्पादन- सूर्यमुखी, सरसों, मूँगफली, तिल, एरूका व सालाडोरा (जाल) आदि ।
- मसालों का उत्पादन- इलायची, लौंग, हल्दी, अदरक आदि ।

14.4.3 किस्मों का सुधार (Varietal Improvement)

जैव प्रौद्योगिकी द्वारा कई पादप किस्मों को कायिक क्लोनीय विविधता, गामा विकिरण या रासायनिक उत्परिवर्तनों द्वारा प्रेरित कर, संकर तो को बचाकर व विभिन्न प्रतिरोधों के लिए वरण करके विकास किया जा सकता है । उन्नत किस्मों का औद्योगिक उत्पादन करने पर सीधा लाभ उत्पाद के मूल्य पर पड़ता है । उदाहरण के लिए कपास की कीटरोधी किस्म, धीरे पकने वाले टमाटर, भिन्न वसीय अम्लों वाली तिलहनी फसलें, विषाणु-मुक्त गन्ने की फसल, उन्नत गेहूँ चावल, आलू केला, पपीता, चुकन्दर, गोभी, आदि।

14.4.4 अगुणित तथा समयुग्मज पौधें (Haploid and Homogygous plants)

परागकोष या परागकण संवर्धन से उत्पादित अगुणित पादप तथा इससे समयुग्मज लाइनों का विकास कर उन्नत बीजों को उत्पादन बहुत बड़े पैमाने पर किया जाने लगा है । जैसे -चावल, गेहूँ इत्यादि।

14.4.5 विषाणु-मुक्त पौधे (Virus free plants)

पौधें का अग्रस्थ विभाज्योतकी भाग विषाणु-मुक्त होता है तथा इसका उपयोग कर पादप ऊतक संवर्धन तकनीक द्वारा एक साथ कई संख्या में विषाणु-मुक्त पौधें तैयार किए जा रहे है । रोग मुक्त पौधों से उत्पादन में वृद्धि, रख-रखाव में कम खर्चा तथा बाजार मूल्य भी अधिक मिलता है ।

विभाज्योतक संवर्धन द्वारा उत्पादित विषाणुमुक्त पौधे -

फसल	विषाणु
लहसुन (Allium sativam)	गारलिक मोजेक विषाणु
फूलगोभी (Brassica oleracea var. capitata)	काऊलीपलावर तथा टरनिप मोजेक विषाणु
डहलिया (Dahlia)	डहलिया मोजेक विषाणु
तम्बाकू (Nicotiana tobaccum)	TMV टोबैको मोजेक विषाणु
गन्ना (Saccharum officinarum)	शुगरकेन मोजेक विषाणु
आलू (Solanum taberosum)	पोटेटो विषाणु

14.4.6 द्वितीय उपापचयज (Secondary Metabolites)

प्राथमिक उपापचयज के अन्तिम उत्पाद जो पौधे की चयउपाचय (Metabolism) क्रियाओं में सम्मिलित नहीं होते हैं । पादपों में ये बहुत कम मात्रा में उपस्थित होते है । इसलिए ये 'कम मात्रा अधिक मूल्य यौगिक', कहलाते है । जैसे एल्केलॉयड, फिनोल. स्टेरॉयड, लिग्निन, टेनिन व सुगंधित तेल । द्वितीय उपापचयजों को पादप ऊतक संवर्धन से निम्न दो युक्तियों द्वारा संश्लेषित व संचयन किया जाता है -

- विस्तृत तौर पर उपयोग में ली जाने वाली युक्ति (अनुभव के आधार पर) ।
- उच्च उत्पादकता वाली कोशिकाओं का वरण करके ।

व्यावसायिक स्तर पर उत्पादन के लिए जैव रिएक्टरों को काम में लिया जाता है । कुछ द्वितीय उपापचयजों के उदाहरण निम्न है -

पादप जातियाँ	द्वितीय उपापचयज
शिकोनिन	लिथोस्पर्मम इरिथ्रोराइजोन
टेक्सोल	टेक्सस बकाटा
डिजोक्सिन	डिजिटालिस परपुरिया, डि. लेनाटा
आर्टेमिसिन	आर्टेमिसिया एन्नुआ
अजमलिसीन	कैथेरेन्थस रोजियस
बर्बरीन	कैप्टिस जैपोनिका
रेसरजीन	रॉवोल्फिया सरर्पेन्टाइना
वनिला	वनिला प्लेनीफोलिया

14.4.7 छत्रक संवर्धन (Mushroom Culture)

बेसिडियोमाइसिटीज की लगभग 2000 जातियों के छत्रक खाने योग्य होती है तथा एक दर्जन के करीब छत्रकों का बड़े पैमाने पर उत्पादन किया जाता है । तीन लोकप्रिय छत्रक है -

- **बटन छत्रक (एगैरिकस बाइस्पोरस) :** सर्वाधिक लोकप्रिय छत्रक है । इसे अपघटित अश्वमल, धान के पुआल या गेहूँ के भूसे से बने कम्पोस्ट पर उगाया जाता है ।
- **ढींगरी छत्रक (प्ल्यूरोटस स्पे.) :** ये धान के पुआल, गेहूँ के भूसे, लकड़ी के लट्ठों आदि पर उगाए जाते है ।
- **धान छत्रक (वोल्वरिएला स्पे.) :** धान के पुआल, गेहूँ ज्वार, मक्का आदि के सूखे अपशिष्ट तनों पर भी उगाए जाते है । उपरोक्त तीनों छत्रकों का व्यावसायिक उत्पादन ताप को नियंत्रित कर वर्ष भर उगाया जा सकता है ।

14.5 सारांश (Summary)

मानव जीवन के प्रत्येक क्षेत्र में जैव प्रौद्योगिक का बहुत बड़े पैमाने पर उपयोग किया जाता है ।पर्यावरण जैव प्रौद्योगिकी द्वारा प्राकृतिक व मानव द्वारा उत्सर्जित हानिकारक पदार्थो, अपशिष्टों व प्रदूषकों को नई-2 विधियों द्वारा समाप्त या कम कर दिया जाता है । अपशिष्टों

व प्रदूषकों (ठोस, द्रव) का वायवीय व अवायवीय उपचार रिएक्टरों या संपाचित्रों में सूक्ष्मजीवों की सहायता से किया जाता है । सूक्ष्मजीवों के अन्तर्गत जीवाणु, फंफूद, प्रोटोजोआ व विषाणु आदि आते है, जो कार्बनिक पदार्थो का अपघटन या कम हानिकारक पदार्थो में रूपान्तरण कर पर्यावरण को स्वच्छ बनाये रखते हैं । मानव द्वारा निर्मित जीवेतर यौगिकों का संयुग्मी निर्माण, संचयन, उपापचय, सहउपापचय व सूक्ष्मजीवों के मिश्रणों के उपयोग द्वारा अपघटन किया जाता है ।

औद्योगिक जैव प्रौद्योगिकी के अन्तर्गत जन्तु, पादप व सूक्ष्मजीवों कोशिका संवर्धन से उपयोगी उत्पादों का व्यावसायिक उत्पादन किया जाता है । उद्योगों में सूक्ष्मजीवों से कई उपापचयजों जैसे - ऐसीटोन-ब्यूटेनॉल, एल्कोहॉल, एन्जाइम्स, ऐंटिबायोटिक इत्यादि का जैव रिएक्टरों में उत्पादन किया जाता है । पुनर्योगज डी.एन.ए. तकनीक, उत्परिवर्तन व पुनर्योगज द्वारा सूक्ष्मजीवों के विभेदों में सुधार कर उत्पादन को बढाया जाता है । जैव नियन्त्रण कारकों के रूप में सूक्ष्मजीवों से जैव कीटनाशियों, जैव खरपतनाशियों आदि का उत्पादन किया जा रहा है । उद्योगों में जैव उर्वरकों के रूप में नाइट्रोजन का स्थिरीकरण करने वाले सूक्ष्मजीवों जैसे - राइजोबियम, एजोटोबैक्टर सायनाबैक्टिरिया आदि का सीधे या पुनर्योगज डी.एन.ए. तकनीक द्वारा जीन स्थानान्तरण कर उर्वरकों के रूप में प्रयोग किया जा रहा है।

सूक्ष्मप्रवर्धन द्वारा सजावटी व अधिक मूल्य के पादपों को अधिक संख्या में कम लागत पर उद्योगों मे उत्पादित किया जाता है । इसके अतिरिक्त पादप कोशिका संवर्धन द्वारा 'कम मात्रा अधिक मूल्य यौगिक (द्वितीय उपापचयज) जैसे - एल्केलॉयड, फिनोल, स्टेरॉइड, लिग्निन, टेनिन व सुगंधित तेल इत्यादि का उत्पादन किया जाता है । खाद्य जैव तकनीक मे बड़े पैमाने पर छत्रक संवर्धन किया जाता है।

14.6 शब्दावली (Glossary)

1. **जैव-आवर्धन (Biomagnification):** जैव अनअपघटनीय यौगिकों का सूक्ष्मजीवों द्वारा पारिस्थितिक तन्त्र में भोजन श्रृंखला के प्रत्येक पोषण स्तर में धीरे- धीरे संग्रहित होना, जैव आवर्धन कहलाता है ।
2. **जैव फिल्टर (Bio filter):** ठोस व द्रव अपशिष्टों का संपाचित्रों या रिएक्टरों में सूक्ष्मजीवों द्वारा निर्मित जैव फिल्म द्वारा विघटन या रूपान्तरण करने वाला यन्त्र, जैव फिल्टर कहलाता है ।
3. **सुपोषण (Eutrophication):** जल में कार्बनिक व अकार्बनिक पदार्थो की अधिकता मुख्यतया नाइट्रेट व फॉस्फेट, से उत्पन्न अवस्था सुपोषण कहलाती है ।
4. **जीवेत्तर यौगिक (Xenobiotic Compound):** मानव द्वारा निर्मित यौगिक जो प्राकृतिक अवस्था में नहीं पाये जाते है, जीवेत्तर यौगिक कहलाते है ।
5. **निम्नीकरण (Degradation):** अधिक जटिल यौगिकों को सरल पदार्थो मे रूपान्तरित करना, निम्नीकरण कहलाता है ।

6. **औद्योगिक सूक्ष्मजैविकी (Industrial Microbiology):** सूक्ष्मजीवों के उपयोग से औद्योगिक स्तर पर आर्थिक महत्व के उत्पाद या सेवा की प्राप्ति को औद्योगिक सूक्ष्म जैविकी कहते है ।
7. **जैव संवेदक (Biosenser):** किसी जैव पदार्थ की सहायता से किसी घोल में उपस्थित विश्लेष्य (analyte) विशेष की मात्रा ज्ञात करने वाली विश्लेषिक युक्तियाँ (analytical devices) जैव संवेदक कहलाती है।
8. **जैव-रिएक्टर (Bioreactor):** ऐसी युक्ति या पात्र जिसमें निम्न मूल्य के क्रियाकारकों से सूक्ष्मजीवों, एन्जाइमों, पादप कोशिका या कैलस संवर्धन द्वारा अधिक मूल्यवान उत्पादों में रूपान्तरण किया जाता है, जैव रिएक्टर कहलाता है ।
9. **(Bio- transformation):** बर्हिजात यौगिकों का पादप कोशिकाओं या सूक्ष्मजीवों द्वारा रूपान्तरण (modification) जैव रूपान्तरण कहलाता है ।
10. **जैव नियन्त्रण (Biological control):** सूक्ष्मजीवों द्वारा कीटों, खरपतवारों एवं रोगों का नियन्त्रण जैव नियन्त्रण कहलाता है ।
11. **जैव कीटनाशी (Bioinsecticides):** कीटों को नियन्त्रण करने के लिए उपयोग किए जाने वाले सूक्ष्मजीव, जैव कीटनाशी कहलाते है ।
12. **जैव उर्वरक (Biofertilizer):** सूक्ष्मजीव जिनका उपयोग पौधों के पोषकों के रूप में किया जाये, जैव उर्वरक कहलाते है ।
13. **सूक्ष्मप्रवर्धन (Micro- Propagation):** ऊत्तक संवर्धन विधि से कर्तौतकों (explants) का उपयोग कर कायिक या वानस्पतिक प्रबंधन द्वारा बहुत छोटे-2 पौधों का उत्पादन करना, सूक्ष्म प्रवर्धन कहलाता है ।
14. **द्वितीय उपापचयज (Secondary Metabolite):** प्राथमिक उपापचयज के अन्तिम उत्पाद जो पौधों की चयउपाचय (Metabolism) क्रियाओं में सम्मिलित नहीं होते है, द्वितीय उपापचयज कहलाते है।

14.7 बोध प्रश्न

नोट: 1. प्रत्येक प्रश्न में खाली स्थान में अपना उतर लिखें ।

2. प्रश्नों के उतर इकाई के अन्त में दिये गए उत्तरों से मिलाऐं ।

प्रश्न 1 रिक्त स्थानों कि पूर्ति करो -

1. मानव द्वारा निर्मित यौगिक ..... यौगिक कहलाते है ।
2. जल मे नाइट्रेट आयनों कि अधिकता से ..... अवस्था तथा शिशुओं में ..... दशा उत्पन्न हो जाती है ।
3. सूक्ष्मजीवों की उपस्थिति में ..... क्रिया द्वारा क्रियाकारको से एल्कोहॉल का उत्पादन किया जाता है ।

4. पेनीसिलीनेज एन्जाइम ..... जीवाणु से प्राप्त किया जाता है।

5. शिकोनिन द्वितीय उपापचयज ..... पादप से प्राप्त किया जाता है ।

प्रश्न 2 बहुविकल्पी प्रश्नों के उत्तर दीजिए -

1. राइजोपस एराइजस के कवक जाल द्वारा एकत्रण किया जाता है -
   (अ) कॉपर (ब) ऐल्युमिनियम (स) यूरेनियम (द) जिंक

2. जैव उर्वरकों के रूप में काम में लिया जाता है -
   (अ) राइजोबियम (ब) एजोटोबैक्टर (स) नील-हरित शैवाल (द) उपरोक्त सभी

3. काऊलीलावर मोजेक विषाणु से मुक्त पादप है-
   (अ) ऐलियम सेटाइवम (ब) निकोटियाना टोबैकम
   (स) सोलेनम ट्यूबेरोसम (द) ब्रेसिका ओलरेसिया किस्म केपिटेटा

4. 'कम मात्रा अधिक मूल्य यौगिक' कहलाते है-
   (अ) प्राथमिक उपापचयज (ब) द्वितीयक उपापचय
   (स) उपरोक्त दोनों (द) कोई नहीं

5. बटन छत्रक कहा जाता है -
   (अ) एगैरिकस बाइस्पोरस (ब) प्ल्यूरोट्स
   (स) वोल्वरिएला (द) इनमें से कोई नहीं

प्रश्न 3. निम्न प्रश्नों के संक्षिप्त उत्तर दीजिए -

1. द्वितीय उपापचयज किसे कहते है?
   .....

2. सूक्ष्म प्रवर्धन की कौन-कौन सी विधियाँ है?
   .....

3. जैव उर्वरक को परिभाषित कीजिए?
   .....

4. जीवेत्तर यौगिक किसे कहते है?
   .....

14.8 संदर्भ प्रश्न (Reference Books)

1. बायोटेक्नोलॉजी - ब्रह्म देव सिंह
2. Biotechnology- Fundamentals and Applications- एस.एस.पुरोहित
3. Molecular Biology and Biotechnology - डॉ.के.जी.रामावत
4. A Text Book of Biotechnology - डॉ.आर. सी.दुबे

5. आनुवांशिकी एवं जैवतकनीकी - जी. एल. पारिख एवं विष्णुदत्त भट्टमेवाड़ा

14.9 बोध प्रश्नों के उत्तर प्रश्न

प्रश्न1 1. जीवेत्तर 2. सुपोषण, नीले-शिशु
3. किण्वन 4. बैसिलस सीरीयस
5. लिथोस्पर्मम इरिथ्रोराइजोन

प्रश्न2 1. स 2. द
3. द 4. ब
5. द

प्रश्न3 1. प्राथमिक उपापचयज के अन्तिम उत्पाद जो पौधों की चयउपाचय (Metabolism) क्रियाओं में सम्मिलित नहीं होते है, द्वितीय उपापचयज कहलाते है ।

2. सूक्ष्मप्रवर्धन अंग विकास, क्लोनन प्रवर्धन, कायिक भ्रूणजनन तथा जैव रिएक्टर विधियों द्वारा किया जाता है ।

3. सूक्ष्मजीव जिनका उपयोग पौधों के पोषकों के रूप में किया जाये, जैव उर्वरक कहलाते है ।

4. मानव द्वारा निर्मित यौगिक जो प्राकृतिक अवस्था में नहीं पाये जाते है, जीवेत्तर यौगिक कहलाते है।

14.10 अभ्यासार्थ प्रश्न

1. पर्यावरणीय जैव प्रौद्योगिकी किसे कहते है? जैव प्रौद्योगिकी द्वारा जलीय अपशिष्ट का वायवीय व अवायवीय उपचार समझाइये?
2. औधोगिक सूक्ष्मजैविकी क्या है तथा इसके विविध अनुप्रयोगों को समझाइए?
3. निम्न में अन्तर समझाइये-
   1. जैव संवेदक व जैव रूपान्तरण
   2. जैव रिएक्टर व जैव नियन्त्रण
   3. राइजोबियम व सायनोबैक्टिरिया
4. सूक्ष्मजीवों का एंटीबायोटिक उत्पादन में क्या महत्व है?
5. द्वितीय उपापचयज किसे कहते है? पादप ऊत्तक संवर्धन द्वारा उत्पादित द्वितीय उपापचयजों के कुछ उदाहरण दीजिए?
6. जैव नियन्त्रण क्या है तथा सूक्ष्मजीवों का जैव नियन्त्रण कारक के रूप मे क्या महत्व है ?
7. जैव उर्वरक किसे कहते है तथा उदाहरण सहित वर्णन कीजिए?

इकाई 15

जैवप्रौद्योगिकी: उल्लेखनीय उपलब्धियाँ एवं संभावनाऐं (Biotechnology: Salient Achivements and Prospects)

इकाई की रूपरेखा

15.0 प्रस्तावना

15.1 उत्तक संवर्धन

15.2 जीन तकनीकी

15.3 प्रतिरक्षा जैवप्रौद्योगिकी

15.4 चिकित्सकीय जैवप्रौद्योगिकी

15.5 उपापचयी हेरफेर

15.6 औधोगिकी जैवप्रौद्योगिकी

15.7 पर्यावरणीय जैवप्रौद्योगिकी

15.8 भारत में जैवप्रौद्योगिकी

15.9 वर्तमान स्तर

15.10 शस्य जैव प्रौद्योगिकी में उपलब्धियाँ

- 15.10.1 पादपों का सूक्ष्म प्रवर्धन
- 15.10.2 कायक्लोनी विभिन्नताओं का उपयोग
- 15.10.3 प्रोटोप्लास्ट संलयन का उपयोग
- 15.10.4 विषाणु रहित पादपों का विकास
- 15.10.5 ट्रांसजीनी पादप
- 15.10.6 महत्वपूर्ण उपापचयज उत्पादन
- 15.10.7 खरपतवारनाशी प्रतिरोध
- 15.10.8 लवण सहिष्णु किस्मों को विकास
- 15.10.9 कृत्रिम या संपुरित बीज का निर्माण
- 15.10.10 फसलों में nif जीन का स्थानांतरण
- 15.10.11 जननद्रव्य संरक्षण

15.11 बोध प्रश्न

15.12 सारांश

15.13 शब्दावली

15.14 संदर्भ ग्रन्थ

15.15 बोध प्रश्नों के उत्तर

15.16 अभ्यासार्थ प्रश्न

15.0 प्रस्तावना (Introduction)

जैवप्रौद्योगिकी एक नवीन, तेजी से बढ़ता हुआ बहुविज्ञान (multidisciplinary) आधारित विज्ञान की शाखा है, जिसमें विज्ञान की अनेक शाखाओं से जानकारी एवं ज्ञान का समावेश होता रहता है । इसमें ऊतक संवर्धन (tissue culture),अणुजैविकी (Molecular technology)जीन अभियांत्रिकी (genetic engineering)प्रतिरक्षा विज्ञान (immunology), किण्वन तकनीक (Fermentation technology)तथा सूक्ष्म जैविकी इत्यादि शामिल है ।

15.1 ऊतक संवर्धन (Tissue Culture)

सभी जैवतकनीकी प्रक्रियाओं में आवश्यक रूप से सूक्ष्मजीव, पादप अथवा जन्तु कोशिकाओं अथवा कोशिका वंश (cell line) को कृत्रिम माध्यम (artificial medium) पर संवर्धित करना पड़ता है । प्राय: सूक्ष्मजीवों को पुनर्योजन DNA 'तकनीकी में जीनोम लाइब्रेरी (genomic library) बनाने तथा उच्च वर्गो के जीवों के जीन अभिव्यक्ति के लिए किया जाता है । उदाहरण के तौर पर ई. कोलाई. (E.coli) को इन्सुलिन (insulin) बनाने के लिए उपयोग किया गया है । परागकोष एवं पराग संवर्धन (anther and pollen culture)से अगुणित पादप बनते हैं जो प्रजनन प्रयोगों (breeding experiments) में सहायक हो सकते है । जीवद्रव्यक विलगन (protoplast isolation) एवं जीवद्रव्यक संलयन (protoplast fusion)से कायिक संकरण (somatic hybridization) तथा अनिषेच्य (incompatible)एवं दूरस्थ संबंधी (distantly related)पादपों में संकरण की संभावनाएं बहुत बढ़ जाती है । ऐसे संकरण सामान्य प्रजनन प्रयोगों से संभव नहीं है । R-DNA 'तकनीक (Re- DNA technology) के द्वारा कोशिकाओं एवं/अथवा जीवद्रव्यकों (protoplasts) को रूपान्तरित (transform) किया जा सकता है एवं उन्हें संवर्धित (culture) कर ट्रांसजीनी (transgenic)पादप बनाये जा सकते है । जन्तुओं में भी ऊतक संवर्धन तकनीक (tissue culture technique)द्वारा गुणवत्ता (Superior quality)युक्त क्लोन (clone)तथा ट्रांसजीनी जन्तु बनाए जा सकते है । निकट भविष्य में इन जीवों को औषधि हार्मोन एवं नवीन अथवा निराले अणु (Novel molecules) बनाने के लिए प्रयोग किया जाता है । इसे आण्विक कृषि (molecular farming) कह सकते है । पादपों में शीर्ष एवं कक्षीय (axillary) कलिकाओं में विभाज्योतक ऊतक (meristematic), विषाणु (viruses) एवं अन्त: कोशिकी (pathogens) रोगाणुओं से रहित होते है । इन विभज्योतकों को अजर्म (aseptic)वातावरण में संवर्धित करके विषाणु एवं रोगाणु रहित पादपक (plantlets) विकसित किए जा सकते है।

15.2 जीन तकनीकी (Gene technology)

यह एक नवीन एवं आशाजनक तकनीक है जिसमें पुनर्योजन DNA तकनीक एवं जीन क्लोनन (gene cloning) विधि का उपयोग किया जाता हे । पुनर्योजन DNA तकनीक में वांछित

जीन के विलग (isolate) करके रिस्ट्रीक्शन एन्डोन्यूक्लिएज विकर (enzyme)के द्वारा काटा जाता है । वाहक अथवा प्लाज्मिड को भी विलग (isolate)करके उसी विकर द्वारा काटा जाता है । इन दोनों को जोड़ कर उपयुक्त अतिशेय (host) कोशिका में प्रविष्ट (introduce) करवाया जाता है एवं संवर्धन के पश्चात उत्पाद को विलगन (isolation)किया जाता है । 1985 में के. मुलिस (K.Mulis)ने नई पोलीमरेज श्रृंखला अभिक्रिया (Polymerase chain reaction) की खोज की । PCR तकनीक जीन तकनीकी में बहुत उपयोगी है । PCR तकनीक से हम परम टेम्पलेट न्यूक्लिओटाइड प्रारंभक (Primer) तथा DNA पोलीमरेज का प्रयोग करके किसी भी DNA 'रज्जुक (Strand) की अनेकों प्रतियां (copies) बना सकते है । PCR तकनीक कम समय लेती है, इसके लिए विशेष तकनीकी कौशल (skill) की आवश्यकता नहीं होती, न ही अनेक विकर एवं वाहकों की आवश्यकता होती है । ऐसा माना जाता है कि शीघ्र ही PCR जीन क्लोनन की तकनीक का स्थान ले लेगी । इसे विधिक पड़तालों (forensic investigations) में अति सूक्ष्म मात्रा (minute amounts) में एकत्रित किए गए DNA को प्रवर्धित (amplify) करने के लिए भी प्रयोग किया जाता है।

15.3 प्रतिरक्षा जैवप्रौद्योगिकी (Immunobiotechology)

पारंपरिक रूप से प्रतिजैविक (antibiotic)बनाने के लिए जन्तुओं को प्रतिजन (antigen)द्वारा प्रतिक्षित (immunize) किया जाता है तथा कुछ समय बाद उनका बलिदान करके उनका रूधिर सीरम (blood serum) विलग किया जाता है । इस प्रकार से तैयार किए जाए प्रतिजैविक समरूप (uniform)नहीं होते, अतः संसूचन (detection)के लिए उपयुक्त नहीं होते । एकक्लोनी (monoclonal) प्रतिजैविक (समरूपी एवं लक्षणों में एक समान) विशिष्ट कोशिकाओं में कोहलर एवं मिलस्टिन (Kohler and Milstein,1975) द्वारा विकसित संकरार्बुद (hybridoma) तकनीक के द्वारा बनाई जा सकती है । संकरार्बुद का तात्पर्य मज्जार्बुद (bone marrow tumor cells) तथा लसिकाणु (lymphocyte)के संलयन कोशिका (fused cells)से है । मज्जाबुर्द कोशिकाएं तेजी से बारम्बार विभाजन की क्षमता रखती है । जब B लसिकाणुओं को इन को इन कोशिकाओं से संलयित (fuse) किया जाता है तब उन संकर (hybrid)कोशिकाओं में भी यह क्षमता आ जाती है । इन संकर कोशिकाओं को विलग कर उन्हें ''एकक्लोनी प्रतिजैविकों' के उत्पादन के लिए संवर्धित किया जाता है ।

15.4 चिकित्सकीय जैवप्रौद्योगिकी (Medical Biotechnology)

जब से जैवप्रौद्योगिकी में आधुनिक तकनीकों का विकास हुआ है, शायद कल्याण एवं चिकित्सा क्षेत्रों ने सर्वाधिक ध्यानाकर्षित किया हैं । आनुवांशिकी अभियांत्रिकी (genetically engineered) सूक्ष्म जीवों से बनाये गये टीके, मानव वृद्धि हार्मोन एवं इन्टरफरॉन अपेक्षाकृत काफी सस्ते होते हैं तथा सभी इन्हें खरीद सकते है । DNA संपरीक्षक (probe) एवं एकक्लोनी प्रतिजैविक (monoclonal antibodies) महत्वपूर्ण रोगों के निदान में बहुत उपयोगी सिद्ध हुए है । विकर संबद्ध प्रतिरक्षी शोषी आमापन (Enzyme linked Immuno Sorbent

Assay,ELISA) नामक तकनीक HIV की पहचान करने में बहुत उपयोगी हैं । इसमें प्रतिरक्षी (antibody) के साथ विकर (enzyme) को आबद्ध (bound) कर दिया जाता है । यह आबद्ध प्रतिरक्षी, प्रतिजन-प्रतिरक्षी संकुल (antigen antibody complex) के प्रति क्रियाशील होती है । विकर आबद्ध अवस्था में भी क्रियाशील रहते हैं तथा उचित क्रियाधार (substrate)से क्रिया करके रंगीन उत्पाद बनाते है, जिसे आसानी से पहचाना जा सकता है । यह तकनीक जीवाणु MLO तथा आविष (toxin) इत्यादि की पहचान के लिए भी उपयोगी है । जीन चिकित्सा (Gene therapy)को घातक आनुवंशिक (deadly hereditary)रोगों के उपचार के लिए काफी आशादायी माना जा रहा है ।

DNA फिंगरप्रिंटिंग ऐसी तकनीक है जिसमें जीनोम (genome) के DNA को रिस्ट्रीक्शन एन्डोन्यूक्लिएज की सहायता से खण्डों में तोड़ दिया जाता है तथा सदर्न ब्लोटिंग (Southern blotting) के द्वारा इसका विश्लेषण (analyse) किया जाता है । यह तकनीक विधि अन्वेषणों में अपराधियों की पहचान में विशेष सहायक है।

15.5 उपापचयी हेरफेर (Metabolic manipulations)

हाल ही में अब प्रोटीन एवं विकरों (enzymes) का उनके कार्यो के अनुरूप डिजाइनन (designing) करना संभव हो गया है जैसे शिल्पकार (architect) आवश्यकताओं के अनुरूप भवनों का डिजाइनन करते है । यह प्रक्रिया प्रोटीन अभियांत्रिकी अथवा प्रोटीन डिजाइनन (Protein engineering or Protein designing) कहलाती है । इसके दूसरे रूप में उपापचयी (metabolic) क्रियाओं में बदलाव (alter) अथवा हेर फेर (manipulate) करना है जिससे वांछित पदार्थो का उत्पाद वृहत् स्तर पर किया जा सकें।

15.6 औद्योगिक जैवप्रौद्योगिकी (Industrial Biotechnology)

अनेक नवीन पदार्थो जैसे औषध (pharmaceutical) इत्यादि के उत्पादन के लिए सूक्ष्मजीव, पादप एवं अथवा जन्तु कोशिकाओं को रूपान्तरित किया जाता है । वृहत् स्तर पर उत्पादन के लिए कोशिकाओं का निश्चलन (immobilisation)उपयोगी माना जाता है ।

15.7 पर्यावरणीय जैवप्रौद्योगिकी (Enviromental Biotechnology)

जैव प्रौद्योगिकी का उपयोग पर्यावरण संबंधी समस्याओं को सुलझाने एवं पर्यावरण में सुधार करने के लिए भी किया जा रहा है । इस से संबंधित विभिन्न अंग इस प्रकार है - प्रदूषण प्रबंधन (pollution management) निम्नीकृत स्थल का पुर्नस्थापन, (restoration of degraded land) तथा जैव विविधता का संरक्षण (conservation of biodiversity) इत्यादि।

भविष्य में जैव प्रौद्योगिकी के कुछ सम्भावित अनुप्रयोग (applications) इस प्रकार है-प्रतिकूल परिस्थितियों जैसे सूखा (drought) ठिठुरन (chilling) अथवा उच्च तापमान, भारी धातु लवणता (heavy metal sailnity)इत्यादि के लिए प्रतिरोधी पादप/वृक्ष/फसलें विकसित करना । ऑक्रिड संवर्धन (Orchid culture), टीके अथवा औषधीय पदार्थो का संचयी उत्पादों (Storage

products) (फलों इत्यादि में) के रूप में संश्लेषण करने वाली कृषि फसलों का विकास करना, लेग्यूमिनिसी पौधों के लावा फासलों पौधों में nif जीन का स्थानान्तरण इत्यादि । भविष्य की एक मुख्य योजना अनुवांशिक अथवा घातक रोगों का जीन चिकित्सा द्वारा उपचार तथा मनुष्य के महत्वपूर्ण अंगों का स्टेम कोशिका (Stem Cell) संवर्धन द्वारा प्रवर्धन (grow) करना एवं कुछ लोगों के अनुसार मानव क्लोनन शामिल है हांलाकि यह काफी विवादास्पद मसला है ।

15.8 भारत में जैवप्रौद्योगिकी (Biotechnology in India)

भारत में भारतीय वैशानिकों में इंडियन साइंस कांग्रेस (Indian Science Congress।, 1982) में जीन तकनीकी (gene technology) पर बल दिया तब भारतीय सरकार ने विज्ञान एवं तकनीकी विभाग (Department of Science and Technology, DST) के तहत इस क्षेत्र में शोध प्रेरित करने हेतु नेशनल बायोतकनीकी बोर्ड (National Biotechnology Board, NBTB) का गठन किया । बाद में 1986 में विज्ञान एवं तकनीकी मंत्रालय में एक अलग जैव प्रौद्योगिकी विभाग अथवा डिपार्टमेन्ट ऑफ बायोटेक्नोलॉजी (Department of Biotechnology, DBT) विभिन्न जैव प्रौद्योगिकी कार्यक्रमों की योजना बनाने एवं समन्वय (cordination) करने के लिए बनाया गया । 1987 में विकासशील देशों के लिए "अंतर्राष्ट्रीय जीन अभियांत्रिकी एवं जैवप्रौद्योगिकी केन्द्र' ICGEB (International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology) नई दिल्ली में स्थापित किया गया, जिसका दूसरा केन्द्र ट्रीस्टे (Trieste) इटली में है । नई दिल्ली स्थित केन्द्र ने 1988 में कार्य करना शुरू कर दिया । DBT ने विभिन्न क्षेत्रों में जैवप्रौद्योगिकी को बढ़ावा देने के लिए अनेक कार्यक्रम शुरू किए । इसके अन्तर्गत 4 संस्थानों में भारतीय कृषि अनुसंधान केन्द्र (Indian Agricultural Research Institute, IAR) नई दिल्ली; जी.बी.पंत विश्वविद्यालय, पंतनगर, तमिलनाडु कृषि विश्वविद्यालय (Tamilnadu Agricultural University, TMAU) कोयम्बटूमर एवं एक अन्य केन्द्र पर स्नातकोत्तर स्तर पर कृषि जैवप्रौद्योगिकी पढ़ाने के मॉडल पद्धति (model system) की शुरूआत भी की।

'लाल बहादुर शास्त्री सेंटर फॉर एडवांस्ट रिसर्च इन बायोटेक्नोलॉजी" नामक केन्द्र का IARI में 1988 में श्री राजीव गांधी द्वारा शुभारम्भ किया गया । इस केन्द्र ने 1993 में काम करना शुरू कर दिया।

नई दिल्ली में 1988 में ICGEB द्वारा एक कार्यशाली (workshop) का आयोजन किया गया जिसमें 15 देशों के प्रतिनिधियों ने भाग लिया एवं अपने सुझाव दिए।

15.9 वर्तमान स्तर (Present status)

DBT ने कुछ विशेष केन्द्रों की पहचान की है जो अन्य केन्द्रों को विशेष सुविधायें प्रदान करेगें तथा जैवप्रौद्योगिकी जानकारी के लिए 9 केन्द्र स्थापित किए गये है जिसमें IARI नई दिल्ली, जवाहर लाल नेहरू विश्वविद्यालय (Jawaharlal Nehru University,JNU)नई दिल्ली मदुरई कामराज विश्वविद्यालय (Maurai Kamraj University) मदुरई, इंडियन इन्सटीयूट ऑफ

साइंस (IIS) बँगलोर, बोस संस्थान (Bose Institute) कलकत्ता, कोशिका एवं अणु जैविकी केन्द्र (CCMB Centre for Cell and Molecular Biology) हैदराबाद राष्ट्रीय प्रतिरक्षी विज्ञान संस्थान (NIL, National Institute of Immunology) नई दिल्ली, सूक्ष्मजैविकी तकनीकी संस्थान (Institute of Microbial Technology, IMTECH) चण्डीगढ़ शामिल है । इसमें से कुछ संस्थानों में अणुजैविकी (molecular biology) में शोध सुविधायें भी है ।

DBT इन संस्थानों, व कुछ अन्य संस्थानों तथा विभिन्न विश्वविद्यालयों में कुछ विभागों को जैवप्रौद्योगिकी के लिए आवश्यक अवसंरचनाऐं (infrastructure) स्थापित करने में सहायता प्रदान की है । इनमें से कुछ सुविधाएं इस प्रकार है -

(i) पशुगृह (Animal houses)

(ii) विकरों (enzymes) एवं विकिरण समस्थानिकों (Biochemical engineering and pilot plant) का उत्पादन आयात एवं वितरण

(iii) DNA संश्लेषक (Synthesizers)

(iv) जनन द्रव्य एकत्रण (Germ plasm collection)

(v) जैवरासायनिक अभियांत्रिकी एवं मार्गदर्शक संयत्र (Biochemical engineering and pilot plant)

(vi) प्रोटीन एवं पेप्टाइड अनुक्रमण (Protein peptide sequencing)

(vii) जीन अभियांत्रिकी अनुसंधान एवं विकास संयंत्र इत्यादि । (Genetic engineering research and development unit etc.)

15.10 शस्य जैव प्रौद्योगिकी में उपलब्धियां (Achievements in Crop Biotechnology)

हरित क्रांति (Green revolution) के दौरान कृषि वैज्ञानिकों विशेषकर पादप प्रजनक (Plant breeders), पादप रोग विशेषज्ञ (Plant pathologists),कीट विशेषज्ञ (entomologists) एवं शस्य वैज्ञानिक (agronomists) इत्यादि के द्वारा किये गये अथक प्रयासों के फलस्वरूप कृषि उत्पादन में उल्लेखनीय वृद्धि हुई है तथा विभिन्न रोगों के कारण हानि में कमी आई हैं यह हरित क्रांति का पहला चरण माना जा सकता है । लगभग 70 के दशक में हरित क्रांति का दूसरा चरण प्रारम्भ हुआ जब पारम्परिक पादप प्रजनन तकनीकों के अतिरिक्त विभिन्न जैव प्रौद्योगिकी तकनीकों का प्रयोग भी पादप किस्मों को सुधार के लिए उपयोग किये गये । इसके अन्तर्गत कोशिका, ऊतक, पादप अंग संवर्धन, प्रोटोप्लास्ट संवर्धन एवं संलयन, जीन स्थानांतरण तकनीक एवं सूक्ष्म प्रवर्धन (micropropagation) इत्यादि शामिल है ।

15.10.1 पादपों का सूक्ष्म प्रवर्धन (Micropropagation of plants)

ऊतक संवर्धन के माध्यम में पादप के पुनर्जनन अथवा पुनउद्भवन (regeneration) को सूक्ष्म प्रवर्धन कहा जाता हैं । पादप के किसी भी भाग के कर्त्तोतक संवर्धन से पहले कैलस बनता है

। प्रारंभिक अवस्था में निलंबक संवर्धन (suspension culture) अधिक उपयोगी रहता है जिससे अनेक कोशिकीय समूह बन जाते है । फिर इन्हें अथवा कैलस को उचित पादप वृद्धि हार्मोन युक्त उपयुक्त संवर्धन माध्यम पर उपसंवर्धित करने पर पादप (plantlets) विकसित किए जा सकते है । इस प्रकार के एक ही पादप के क्लोन (clone) ही होते है, अत: कभी-कभी इसे क्लोनी संवर्धन (clonal propagation) भी कहते है । सूक्ष्म संवर्धन के लिए जलवायु एवं मौसम पर निर्भर रहने की कोई आवश्यकता नहीं होती है । अनेक पादप जिनके बीजों का लम्बा सुषुप्तकाल (dormancy period) होता है, उन्हें सूक्ष्म प्रवर्धन द्वारा प्रवर्धित किया जा सकता है, जैसे अनेक वृक्ष क्लोनी सवंर्धन का उद्यानिकी में विशेष महत्व है ।

15.10.2 कायक्लोनी विभिन्नताओं का उपयोग (Somoclonal variations and their uses)

ऊतक संवर्धन के दौरान कुछ समय तक विभाजन सामान्य होते हैं तथा सभी कोशिकाएं एक समान सी होती है । कैलस कोशिकाओं की प्रवृत्ति (tendency) ऐसी होती है कि कुछ समय बाद उसकी विभिन्न कोशिकाओं का गुणिता स्तर भिन्न हो जाता है । इनमें अनेक कोशिकाओं में बहुगुणिता देखी गई है । इसमें कुछ को चयन कर उन्हें फसलों व पादपों के सुधार के लिए उपयोग किया जा सकता है । इस विधि से आलू में अगेती एवं पछेती अंगभारी (early and late blight) के प्रतिरोधी पादप तथा गन्ने में मृदुरोमिल आसिता (downy mildew) रोगरोधी किस्में विकसित की गई है ।

15.10.3 प्रोटोप्लास्ट संलयन का उपयोग (Use of protoplast fusion)

फैसूलियोटिस और सहयोगियों (Fassuliotis et al.)ने बैंगन (Solanum melongena) सोलेनम सिसीम्बिफोलियम (S. Sisymbrifolium) के प्रोटोप्लास्ट संलयन द्वारा मूल ग्रंथि (root Knot) रोग प्रतिरोधी पादप विकसित किये ।

15.10.4 विषाणु रहित पादपों का विकास (Development of virus free plantlets)

विभिन्न पादपों के अध्ययन से पाया गया कि विषाणु सामान्यत: पादप के लगभग सभी ऊतक की कोशिकाओं में पाये जाते हैं परन्तु विभाज्योतकी ऊतक में अधिकांशत: नहीं पाये जाते । विषाणुओं पर किसी प्रकार के पीड़कनाशी (pesticide) अथवा प्रतिजैविकों (antibiotics) को कोई विशेष प्रभाव नहीं पड़ता, अत: इनका नियन्त्रण बहुत कठिन होता है । चूंकि विभाज्योतकी कोशिकाओं में विषाणु नहीं होते, अत: उचित माध्यम पर प्ररोह शीर्ष (Shoot apex) संवर्धन के द्वारा विषाणु रहित पादपक विकसित किये जा सकते है । अब तक 50 से अधिक पादपों में इस विधि से विषाणु रहित पादप बनाये गये है ।

15.10.5 ट्रांसजीनी पादप (Transgenic plants)

ट्रांसजीनी पादप किसी पादप के जीनोम में एक अथवा अधिक वांछित के निवेश (Introduction) के फलस्वरूप बनते हैं । पादप कोशिका में जीन को निवेशित करने के बाद

उन्हें उचित संवर्धन माध्यम पर संवर्धित कर पादपक विकसित किए जाते है । ऊतक संवर्धन तकनीक के बिना ट्रांसजीनी पादपों को बनाना/ विकसित करना असम्भव है ।

15.10.8 महत्वपूर्ण उपापचयज उत्पादन (Production of important metabolites)

अनेक पादपों की कोशिकायें द्वितीयक उपापचयज (secondary metabolites) बनाती है ।,ये उपापचयज सीधे ही अथवा कुछ सामान्य रूपान्तरण के पश्चात विशेषत: औषधीय रूप से बहुत उपयोगी है। इनमें से अनेक पादपों को ऊतक सवंर्धन पादन की अपेक्षा अधिक उत्पादन करते हैं, अत: व्यावसायिक स्तर पर इनके उत्पादन के लिए ऊतक संवर्धन बहुत उपयोगी है ।
इसी तरह ऊतक संवर्धन का उपयोग पादप अथवा अन्य जीवों में उत्पन्न उपापचयजों को रूपान्तरण (transformation) कर औषधीय गुण युक्त नवीन जैवाणुओं (biomolecules) में परिवर्तित करने के लिए किया जाता है ।

15.10.7 खरपतवारनाशी प्रतिरोध (Herbicide resistance)

सामान्यत: कृषि में खरपतवार की रोकथाम के लिए खरपतवारनाशियों का उपयोग किया जाता है । परन्तु कुछ फसली पादपों पर भी इनका विपरीत प्रभाव पड़ता है । ऊतक एवं कोशिका संवर्धन के माध्यम से खरपतवार नाशीरोधक पादप विकसित किये गये हैं ।

15.10.8 लवण सहिष्णु किस्मों को विकास (Development of salt tolerant variceties)

बढ़ती जनसंख्या के साथ जरूरी हो जाता है कि कृषि उत्पादन/ उपज बढ़ाने के साथ ही हम बेकार पड़ी जमीन का भी किसी प्रकार उपयोग कर सकें । मृदा लवणता (soil salinity) कृषि क्षेत्र से जुड़ी विश्वव्यापी महत्वपूर्ण समस्या है ।
संवर्धन माध्यम में लवणों की सान्द्रता धीरे-धीरे बढ़ाकर इस सान्द्रता पर सफलतापूर्वक विकसित होने वाले कोशिका वंशों को और अधिक लवण सांद्रता पर रखा जाता है । इस प्रकार धीरे-धीरे लवणों की अधिक सांद्रता के प्रति सहिष्णु प्रभेद (strains) विकसित किये गए हैं ।

15.10.8 कृत्रिम या संपुरित बीज का निर्माण (Production of artificial or encapsulated seeds)

अमेरिका के मुराशीगे (Murashige,1977) ने सर्वप्रथम संपुरित बीज निर्माण की अवधारणा प्रस्तुत की । इसमें जेल (gel) बीज आवरण का एवं कृत्रिम भ्रूणपोष (endosperm) का कार्य करता है । जो सत्य बीजों की तरह ही भ्रूण को भोज्य पदार्थो प्रदान करता है । इसके लिए जल में घुलनशील जैसे जैसे -Na/Ca एज्जिनेट (लाल शैवाल से प्राप्त उत्पाद) का प्रयोग किया जाता है । इस विधि का, सिट्रस एवं अनेक पादपों के संपुरित बीजों का प्रयोग किया जाता है ।

15.10.9 फसलों में nif जीन का स्थानांतरण (Transfer of nif gene in crops)

जीवाणुओं द्वारा गैर लेग्यूमी फसलों विशेषकर अनाज वर्गीय फसलों में नाइट्रोन यौगिकीकरण कारक जीन (nif) का स्थानान्तरण करके उनमें नाइट्रोजन यौगिकीकरण क्रिया को प्रेरित करने के प्रयास किये जा रहे है ।

15.10.10 जननद्रव्य संरक्षण (Conservation of germplasm)

मनुष्य जिन अनेक पारिस्थितिक एवं आर्थिक समस्याओं से ग्रस्त है उनमें एक विकट समस्या "जैव विविधता की क्षति" है । हांलाकि जैविक विलोपन (biological extinction) एक प्राकृतिक प्रक्रिया है परन्तु पिछले कुछ दशकों में प्राकृतिक पारिस्थितिकी तंत्र (natural ecosystem) से अत्यधिक छेड़छाड़ के कारण उस की गति बहुत तेजी से बढ़ी है । यह एक भूमण्डलीय सार्वत्रिक (global) संकट है जो सभी देशों को प्रभावित करता है । अनेक संकटग्रस्त पारिस्थितिकी तंत्रों को (जैसे कि उष्णकटिबन्धीय वर्षा वन) के बार में हमारे पास पूरी जानकारी भी नहीं है ।

यह जैव विविधता ही विभिन्न घरेलू कृत पादपों (domesticated plants) का स्रोत रही है । अनेक पादप रोग प्रतिरोधी (disease resistance) लवण सष्णुता (salt tolerance) अधिक उत्पादन, सूखा प्रतिरोधी (drought resistance) इत्यादि के लिए जीन का स्रोत रहे हैं । किसी जीव/प्राणी के जनन कोशिकाओं में उपस्थित आनुवंशिक पदार्थ को जनन द्रव्य (germplasm) कहते हैं ।

जब से आदिम मनुष्य ने कृषि की कला सीखी उसी दिन से उसने बीजों एवं प्रवध्यों (propagules) को छांटना एवं सम्भाल कर रखना भी शुरू कर दिया । अप्रत्यक्ष रूप से मनुष्य जनन द्रव्य संरक्षण का कार्य कर रहा था । वर्तमान परिदृश्य में स्थिति बहुत चिन्ताजनक है क्योंकि स्वयं मनुष्य ने जनसंख्या विस्फोट के दबाव में आकर अनेक प्राकृतिक आवास (habitats) नष्ट कर दिये हैं । इस कारण अनेकों पादप एवं जन्तु विलुप्त हो गए है और अनेकों इस सूची में शामिल होने की ओर अग्रसर है ।

15.11 बोध प्रश्न

नोट: - (i) प्रत्येक प्रश्न में छोड़ी गयी जगह का इस्तेमाल अपने उत्तर लिखने के लिए करें ।

(ii) अपने उत्तर इकाई के अन्त में दिये गये उत्तरों से मिलाऐं ।

प्रश्न 1 रिक्त स्थानों को भरो-

1. बायोटेक्नोलॉजी शब्द ..... ने प्रस्तावित किया था ।
2. कर्तोतक की सतह का निर्जनीकरण ..... से किया जाता है ।
3. अकार्बनिक पोषक तत्वों की संख्या ..... है ।

प्रश्न 2 बहुविकल्पी प्रश्न -

निम्न में से सही उत्तर कोष्ठक में लिखे -

1. कायिक भ्रूण होते है -

(अ) एकध्रुवीय (ब) द्वि ध्रुवीय (स) बहु ध्रुवीय (द) अध्रुवीय

2. असंगठित कैलस में जब जड़, तना तथा पत्तियां विकसित हो जाती है तब से कहते है-

(अ) पूर्णशक्ता (ब) अंगजनन (स) कोशिका विभेद (द) अंगविकास

3. सैल्यूलोज एन्जाइम प्राप्त किया जाता है -

(अ)ट्राइकोडर्मा (ब)इरपेक्स लेक्टिस (स)राइजोपस जाति स (द)एस्पर्जिलस नाइजर

प्रश्न 3 निम्नलिखित प्रश्नों का संक्षिप्त में उत्तर दो :-

1. पूर्णशक्तता किसे कहते है?

.....

.....

2. अंगजनन का विस्तृत रूप से वर्णन कीजिए ।

.....

.....

3. वाइरसमुक्त पौधें किस विधि से प्राप्त करते है?

.....

.....

15.12 सारांश (Summary)

जैवप्रौद्योगिकी अनुप्रयुक्त (applied) विज्ञान है जिसके मनुष्य के लिए लाभ हेतु विभिन्न तरीकों से विभिन्न उपयोग (application) होते है । जैव प्रौद्योगिकी के आगमन से अब तक विकसित देशों में अनेक कम्पनियों ने जैव प्रौद्योगिकी अनुप्रयोगों (biotechnological application) की व्यवसायिक सम्भावनाओं (commercial potential) को देखते हुए इसमें रूचि दर्शायी है । संयुक्त राज्य, U.K. जर्मनी, फ्रांस तथा जापान जैव प्रौद्योगिकी के क्षेत्र में अग्रणी देश है ।

विभिन्न जैव प्रौद्योगिक कम्पनियों द्वारा अपनाये गये विभिन्न कार्यक्रम इस प्रकार है- औषध यौगिक (pharmaceutical compounds) बनाने वाले सूक्ष्म जीवों का अनुवांशिक सुधार (genetic improvement) औद्योगिक उपयोग के लिए निश्चलित संवर्धन तंत्र (immobilized culture system) का विकास, सतत् (continuous) इथेनोल उत्पादन, टीकों एवं एकक्लोनी प्रतिजैविकों (monoclonal antibodies) का उत्पादन, जैवपीड़कनाशी (biopesticides) एवं जैव उर्वरकों (Biofertilizer) का उत्पादन मानव जीन चिकित्सा (gene therapy) तेल क्षेत्रों से कच्चे तेल की प्राप्ति (recovery) के लिए जैन्थम गोंद (Xanthum

gum) का उत्पादन । इसके अतिरिक्त ट्रांसजीनी पादप एवं जन्तु विकसित किऐ गये हैं । जीन बैंक एवं जनन द्रव्य (germ plasm) संरक्षण के द्वारा भवष्यि में संभावित उपयोग के लिए जैव विविधता संरक्षण (biodiversity conservation) के लिए भी कार्य किया जा रहा है ।

15.13 शब्दावली (Glossary of terms)

1. **अंगजनन (organogenesis) -** असंगठित कैलस (unorganized callus) से अपस्थानिक अंगों जड़ तना पत्तियों के विभेदन को अंगजनन कहते है ।
2. **भ्रूण संवर्धन (Embryo culture) -** परिवर्धित हो रहे बीजों में से तरूण भ्रूणों को निकाल कर पात्रे संबध करके पौधों की प्राप्ति करना भ्रूण कहलाता है ।
3. **पूर्णशक्तता (Totipotency)** एक पादप कोशिकी की सम्पूर्ण पादप उत्पन्न करने की क्षमता ।
4. **पादप वाहक (Plant vector)-** पौधों में जीन स्थानान्तरण के लिए उपयोग में लाये जाते है ।
5. **प्रोटोप्लास्ट (Protoplast) -** कोशिका भित्ति को हटाने पर प्लाज्माझिल्ली युक्त कोशिका को प्रोटोप्लास्ट (Protoplast) कहते है ।

15.14 संदर्भ ग्रन्थ (Reference Book)

1. Biotechnology- P.K. Gupta
2. Plant Tissue Culture -M.K. Razdan

15.15 बोध प्रश्नों के उत्तर :

प्रश्न 1 1. कार्ल ऐरीक
2. मक्यूरिक क्लोराइड
3. 12

प्रश्न 2 1. द्विधुवीय
2. अंगविकास
3. ट्राइकोडर्मा रिसी

प्रश्न 3 1. एक पादप कोशिका की सम्पूर्ण पादप उत्पन्न करने की क्षमता
2. असंगठित कैलस से अपस्थानिक अंगों, जड़ तना पत्तियों के विभेदन को अंगजनन कहते है ।
3. विभाज्योतक संवर्धन

15.16 अभ्यासार्थ प्रश्न (Exercise Question)

प्रश्न 1 निम्नलिखित पर संक्षिप्त टिप्पणियां लिखो -
(i) पूर्णशक्तता
(ii) ऊतक संवर्धन

(ii) कर्तोतक

प्रश्न 2 पादप ऊतक संवर्धन से आप क्या समझते है ।

प्रश्न 3 अंगजनन का विस्तृत रूप से वर्णन कीजिये ।

प्रश्न 4 कैलस किसे कहते है ?

प्रश्न 5 एकल कोशिका संवर्धन किसे कहते हैं?

ISBN - 13/978-81-8496-128-7