6. जैव प्रौद्योगिकी – सिद्धान्त एवं प्रक्रम

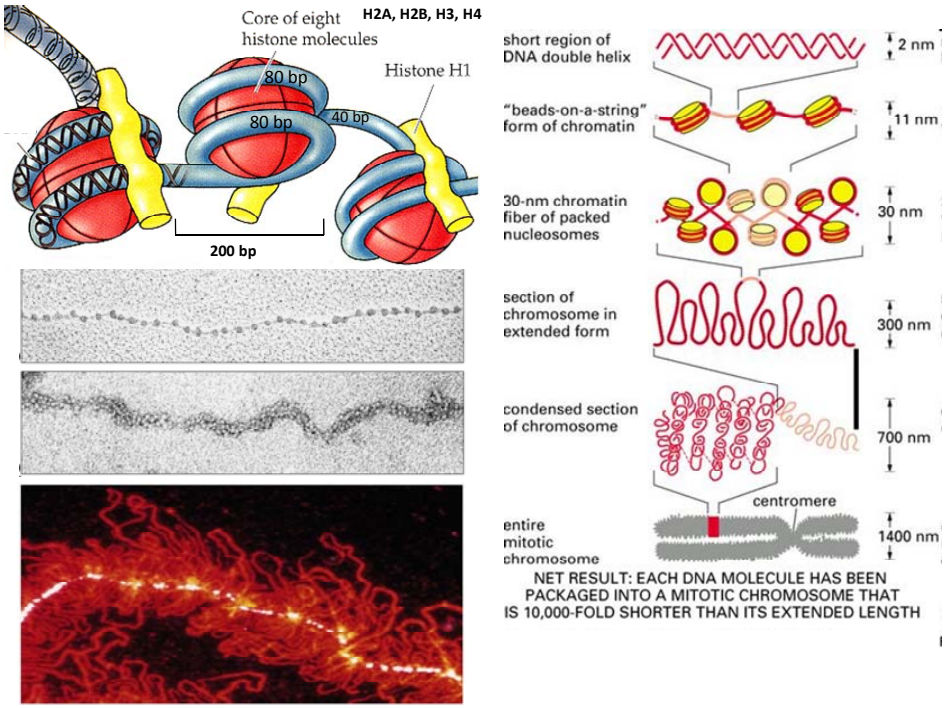
आधुनिक जैव प्रौद्योगिकी के विकास में निम्न दो प्रमुख तकनीकों का योगदान है। ये हैं :–

(क) आनुवंशिक इंजीनियरिंग – इस तकनीक द्वारा आनुवंशिक पदार्थों (डीएनए या आरएनए) के रसायन में कर इसे परपोषी जीवों (होस्ट आर्गेनिज्म) में प्रवेश कराकर इसके समलक्ष्णी (फीनोटाइप) में परिवर्तन करते हैं।

(ख) रासायनिक इंजीनियरिंग प्रक्रमों में रोगाणुरहित (सूक्ष्म जीव संदूषण रहित) वातावरण बनाकर केवल वांछित सूक्ष्मजीवों/सुकेंद्रकी कोशिकाओं में वृद्धिकर अधिक मात्रा में जैव प्रौद्योगिकी उत्पादों जैसे – प्रतिजैविकों (एंटीबॉयोटिक), टीके, ंजाइमों आदि का निर्माण किया जाता है।

आनुवंशिक इंजीनियरिंग तकनीकों में जीन क्लोनिंग एवं जीन स्थानांतरण का उपयोग कर पुनर्योगज डीएनए (रीकॉम्बीनेंट डीएन) का निर्माण किया जाता है जिससे, बिना अवांछित जीनों के केवल एक या क से अधिक वांछित जीन को चुने हु जीवों में स्थानांतरित करते हैं।

विजातीय (लियन) आदाता (ग्राही) के जीनोम में जुड़ जाता है तब यह गुणित होकर परपोषी डीएनए के साथ वांशागत हो जाता है। यह विजातीय डीनए खंड, गुणसूत्र का अंग हो जाता है जिसमें प्रतिकृति करने की क्षमता होती है। एक गुणसूत्र में एक विशिष्ट डीएनए अनुक्रम होता है जिसे प्रतिकृतीयन (रेप्लिकेशन) का उत्पत्ति कहते हैं और जो प्रतिकृतियन के लिए उत्तरदायी हैं । इस प्रकार एक विजातीय डीएनए प्रतिकृति के मूल से जुड़ा रहता है, ताकि डीएन का विजातीय खंड परपोषी जीवन में स्वयं प्रतिकृति व गुणित हो सके। इसे क्लोनिंग भी कह सकते हैं या किसी टेम्पलेट डीएन की समान गुणित संरचना का निर्माण कह सकते हैं।



प्रथम पुनर्योगज डीएनए का निर्माण सालमोनेला टाइफीमूरियम के सहज प्लाज्मिड (यह गोलाकार गुणसूत्र बाह्य डीएनए है जो स्वतः प्रतिकृति करता है।) में प्रतिजैविक प्रतिरोधी कूटलेखन जीन के जुड़ने से हो सका था। स्टेनले कोहेन व हरबर्ट बोयर ने 1972 में उपर्युक्त कार्य प्लाज्मिड से डीएनए का टुकड़ा काटकर संपन्न किया जिनमें प्रतिजैविक प्रतिरोध प्रदान करने के लिए जिम्मेदार जीन था। आणविक कैंची कहे जाने वाले 'प्रतिबंधन एंजाइम्स' (रिस्ट्रिक्शन एंजाइम) की खोज से डीएनए को विशिष्ट जगहों पर काटना संभव हो सका।

Different types of cloning vectors

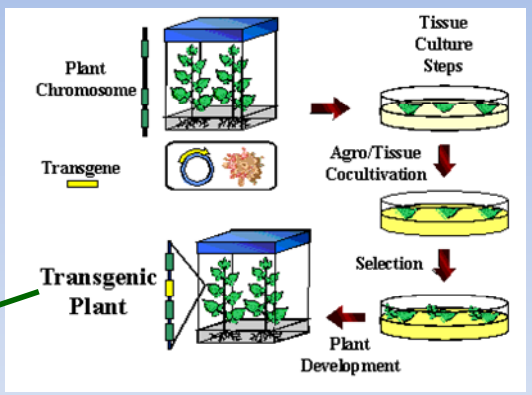
Plasmids: Circular DNA molecules which replicate separately from the host chromosome. Plasmids used for genomic and cDNA cloning. Bacterial host. Insert size range ≤ 15kb.

Bacteriophage-based Cosmids: Linear DNA molecules used for genomic and cDNA cloning. Bacterial host. Insert size range ≤ 20kb.

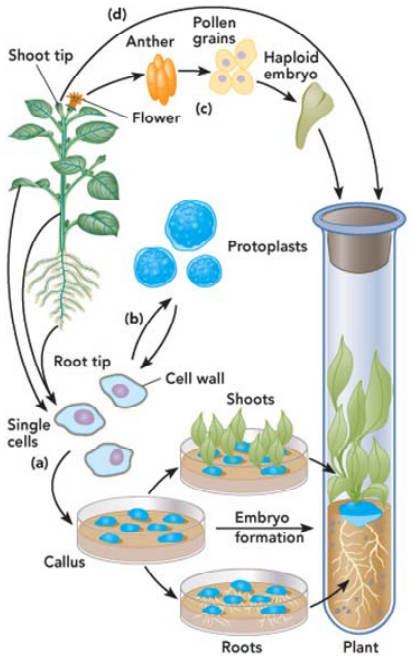
Bacterial Artificial Chromosomes (BACs): Circular DNA molecules used for cloning very long segments of genomic DNA. Bacterial host. Insert size range 100-300 kb.

Yeast Artificial Chromosomes (YACs) : Specialized DNA molecules used for cloning very, very long segments of genomic DNA. Yeast host. Insert size range 100-2000kb.

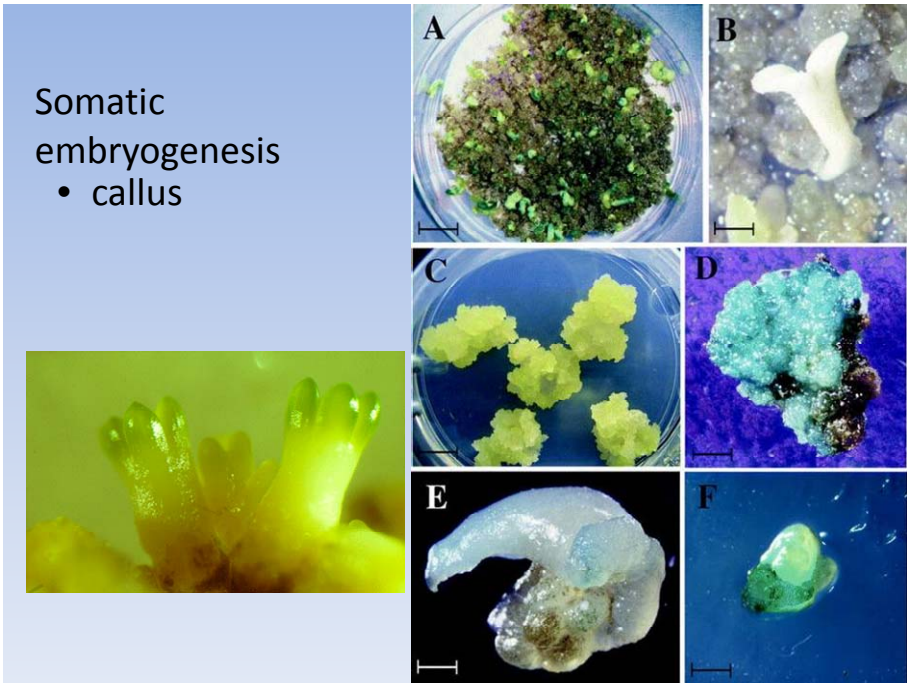
The Lab Steps



Whole plants can be regenerated via cell and tissue culture



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन को संवाहक के साथ जोड़ने का काम एंजाइम डीएनए लाइगेज के द्वारा होता है जो डीएनए अणु के कटे हुए भाग पर कार्य कर उसके किनारों को जोड़ने का काम करता है। इस संयोजन से पात्रे (इन विट्रो) नये गोलाकार स्वतः प्रतिकृति बनाने वाले डीनए का निर्माण होता है जिसे पुर्नयोगज डीएनए कहते हैं। जब यह डीएनए एशरिकिआ कोलाई (ई. कोलाई) (एक जीवाणु जो सालमोनेल से काफी मिलता–जुलता है) में स्थानांतरित किया जाता है तो यह नए परपोषी के डीएनए पॉलिमरेज एंजाइम का उपयोग कर अनेक प्रतिकृतियाँ बना लेता है। प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन की प्रति का ई. कोलाई गा गुणन, ई. कोलाई में प्रति जैविक प्रतिरोधी जीन की क्लोनिंग कहलाता है।

जीवन के आनुवंशिक रूपांतर में मूलभूत तीन चरण हैं :–

(क) वांछित जीन युक्त डीएनए की पहचान

(ख) चिन्हित डीएन का परपोषी में स्थानांतरण

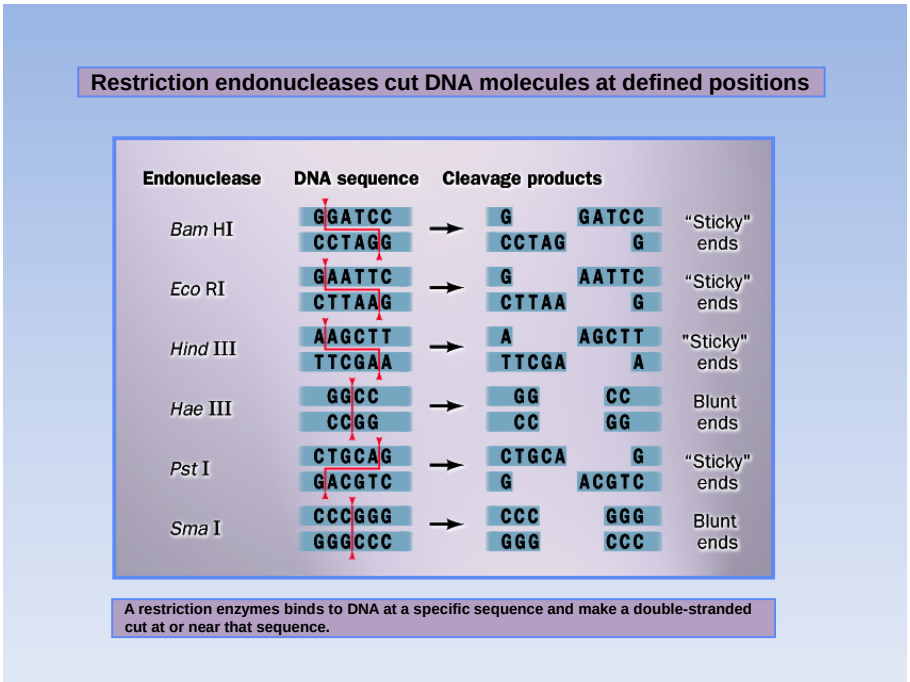
(ग) स्थानांतरित डीएनए को परपोषी में सुरक्षित रखना तथा उसकी संतति में स्थानांतरित करना।

आनुवंशिक इंजीनियरिंग या पुनर्योगज डीएनए तकनीक तभी संपादित हो सकती है जब हमारे पास तकनीकी साधन जैसे प्रतिबंधन एंजाइम पॉलिमरेज एंजाइम, लाइगेज, संवाहक व परपोषी जीव हो।

प्रतिबंधन एंजाइम

वर्ष 1963 में दो एंजाइम पृथक किए गए – प्रथम प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लियेज – हिंड II , जिसका कार्य डीएनए न्यूक्लियोटाइड विशिष्ट क्रम पर निर्भर है। यहा पाँच वर्ष बाद पृथक किया और पहचाना गया । ऐसा पाया गया कि हिंड II, डीएनए अणु को उस विशेष बिंदु पर काटते हैं जहाँ पर छह क्षारक युग्मों (बेस पेयर) का एक विशेष अनुक्रम होता है।

हिंड II के अलावा आज 900 से अधिक प्रतिबंधन एंजाइमों के बारे में जानकारी है जो जीवाणुओं के 230 से अधिक प्रभेदों (स्ट्रेंस) से पृथक कि गए हैं; जिनमें से प्रत्येक विभिन्न पहचान अनुक्रमों को पहचानते हैं। इन एंजाइमों के नामकरण में परंपरानुसार नाम का पहला शब्द वंश व दूसरा एवं तीसरा शब्द प्राकेंद्रकी कोशिकाओं की जाति से लिया गया है, जिनसे ये पृथक किए गए थे। जैसे – ईको आर I (EcoR I) *एशरिशिया कोलाई* आर वाई 13, ईको आर I में वर्ण 'आर (R)' प्रभेद के नाम से लिया गया है। नाम के बाद रोमन अंक उस क्रम को दर्शाते हैं जिसको जीवाणु के प्रभेद से एंजाइम पृथक किए गए थे।



डीएन में पैलिंड्रोम क्षारक युग्मों का एक ऐसा अनुक्रम होता है जो पढ़ने के अभिविन्यास को समान रखने पर दोनों लड़ियों में क जैसे पढ़ा जाता है। उदाहरणार्थ – निम्न अनुक्रमों को '5 → 3' दिशा में पढ़ने पर दोनों लड़ियों में एक जैसा पढ़ा जाएगा। अगर इसे '5 → 3' दिशा में पढ़ा जाए तब भी यह बात सही बैठती है–

5′ – जी ए टी टी सी – 3′

(GAATTC)

3′ – सी टी टी ए ए जी – 5′

(GAATTC)

डीएनए खंड का पृथक्करण एवं विलगन – प्रतिबंधन एंडोन्यूक्लिएज द्वारा डीएन को काटने के परिणामस्वरूप डीन का खंडन हो जाता है। इन खंडों को एक तकनीक द्वारा अलग कर सकते हैं जिसे जेल वैद्युत का संचलन (इलेक्ट्रोफोरेसिस) कहते हैं। चूंकि डीएनए खंड ऋणात्मक आवेशित (चार्जड) अणु होते हैं, इसलिए इन्हें विद्युत क्षेत्र में माध्यम/आधात्री द्वारा ऐनोड की तरफ बलपूर्वक भेजकर अलग कर सकते हैं। आजकल बहुत ही सामान्य रूप से उपयोग किया जाने वाला माध्यम, ऐगारेज है जो समुद्रीय घास (सी वीडस) से निकाला गया एक

प्राकृतिक बहुलक (पॉलिमर) है। डीएनए खंडों को ेगारोज जेल के छलनी प्रभाव द्वारा उनके आकर के अनुसार अलग करते हैं। इस कारण खंड जितने छोटे आकार के होंगे, वे अधिक दूर तक जायेंगे।

पृथक्कृत डीएनए खंडों को तभी देख सकते हैं जब इस डीएनए को इथीडियम ब्रामाइड नामक यौगिक से अभिरंजित कर पराबैंगनी विकिरणों से अनावृत करते हैं।

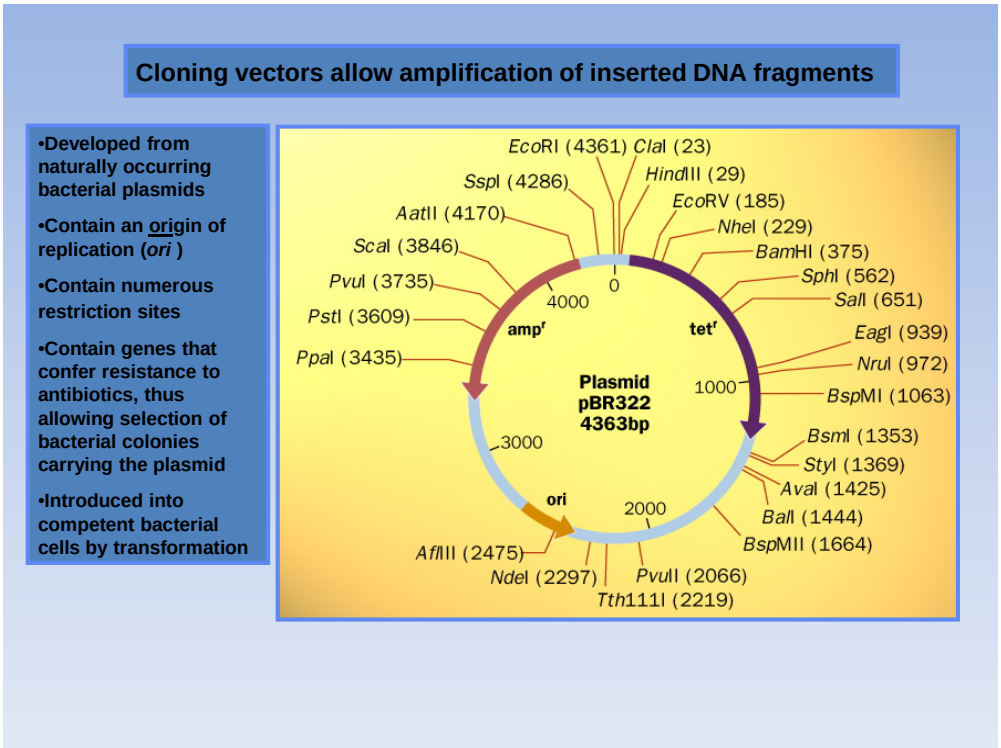
संवाहक में क्लोनिंग करने हेतु निम्न विशेषताओं की आवश्यकता होती है –

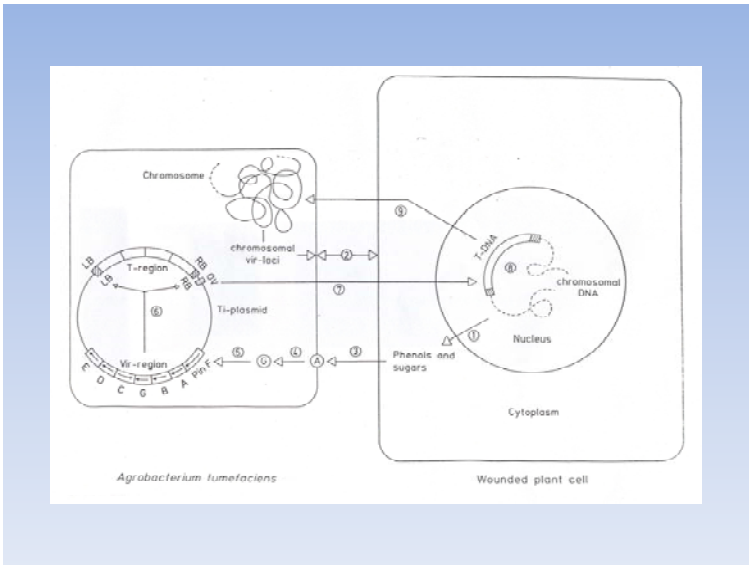
(क) प्रतिकृतियन का उत्पत्ति (Ori का प्रारंभ)–यह वह अनुक्रम है जहाँ से प्रतिकृतीयन की शुरुआत होती है और जब कोई डीएनए का कोई खंड इस अनुक्रम से जुड़ जाता है तब परपोषी कोशिकाओं के अंदर प्रतिकृति कर सकता है।

(ख) सामान्यतया एंपिसिलिन, क्लोरैम्फेनिकॉल, टेट्रोसाइक्लीन या केनामाइसीन जैसे प्रतिजैविक (एंटीबॉयोटिक) के प्रति प्रतिरोध कोडित करने (एन्कोडिंग) वाले जीन ई.कोलाई के लिए उपयोगी वरणयोग्य चिह्नक माने जाते है।

(ग) क्लोनिंग स्थल – विजातीय डीएनए को जोड़ने हेतु सामान्यतः काम में लिए जा रहे प्रतिबंधित एंजाइम के लिए संवाहक में कुछ या एक ही पहचान स्थल होना चाहिए। संवाहक के अंदर एक से अधिक पहचान स्थल होने पर इसके कई खंड बन जाते हैं जो जीन क्लोनिंग को जटिल बना देते है।

(घ) पौधों व जंतुओं में जीन क्लोनिंग हेतु संवाहक– एग्रोबैक्टीरियम ट्यूमीफेशिएंस कई द्विबीज पत्री पौधों का रोगजनक पैथोजन है। वह डीएनए के एक खंड जिसे "टी.–डीएनए" कहते है, को स्थानांतरित कर सामान्य पौधों की कोशिकाओं को **अर्बुद (ट्यूमर)** में रुपांतरित करता है और ये अबुर्द कोशिकाएँ रोगजनक के लिए जरुरी रसायनों का उत्पादन करते हैं।



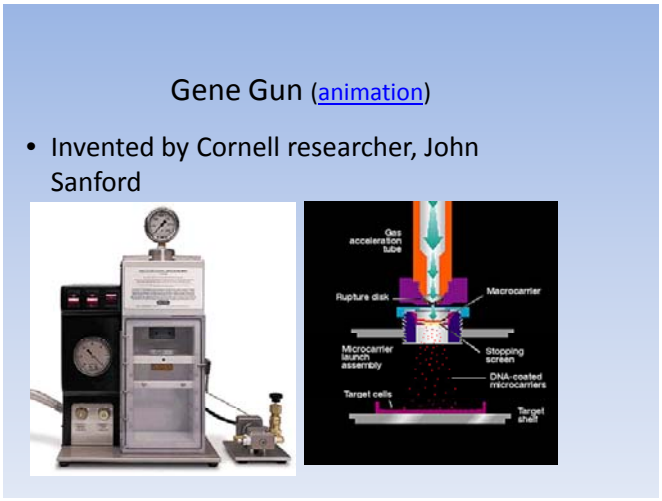


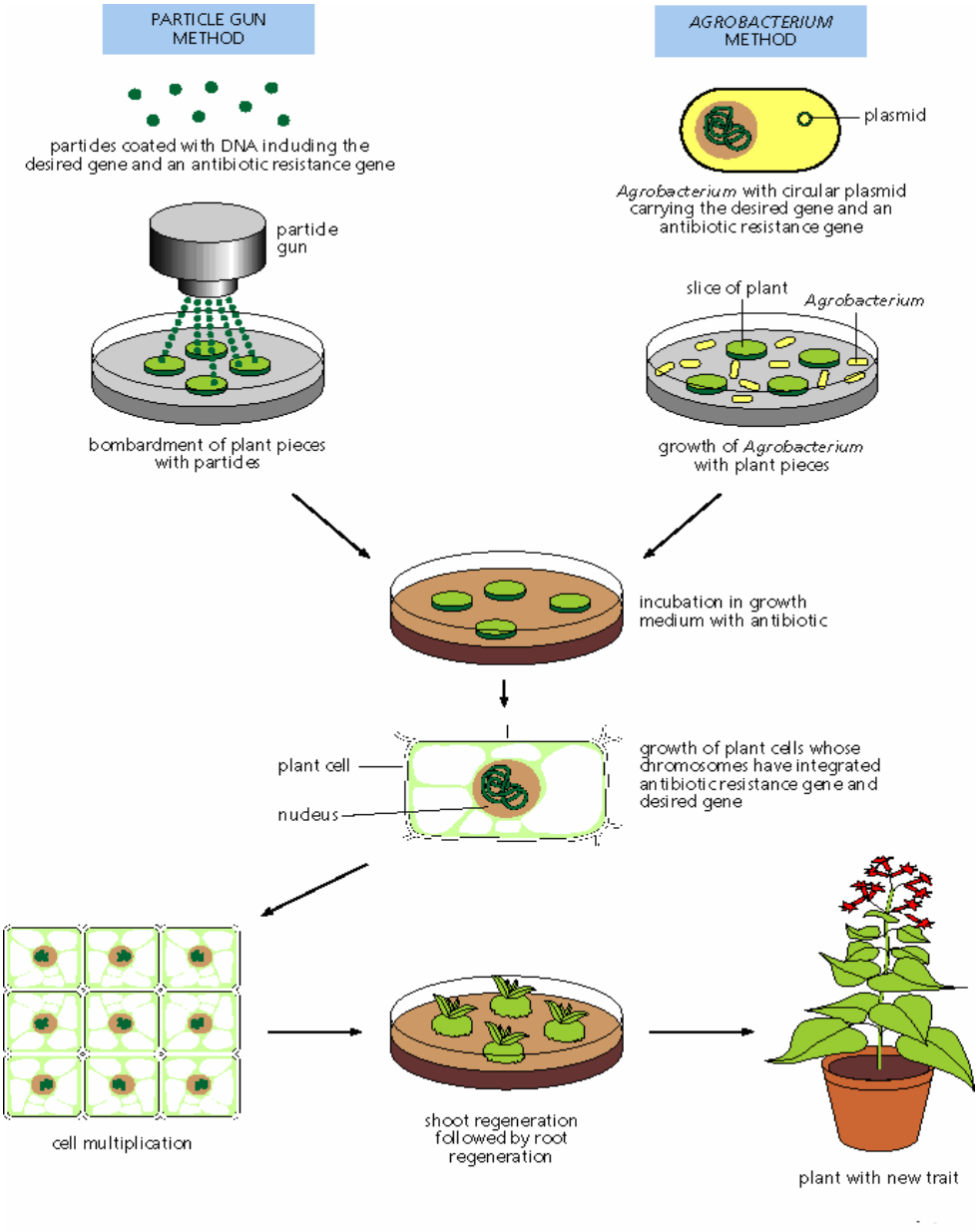
एग्रोबैक्टीरियम ट्यूमीफेशिएंस का टी आई (Ti) प्लाज्मिड क्लोनिंग संवाहक के रुप में अब रुपांतरित कर दिया गया है जो पौधों के लिए रोग जनक नही है, लेकिन इसका उपयोग अपनी अभिरुचि के जीन को अनेक पौधों में स्थानांतरित करने में किया जाता है।

सक्षम परपोषी आतिथेय (पुनर्योगज डीएनए के साथ रुपांतरण हेतु)

जीवाणु कोशिका को डीएनए लेते हेतु "सक्षम" बनाया जाए। ऐसा करने के लिए पहले द्विसंयोजन धनायन (डाइबैलेंट कैटायन) जैसे कि कैल्सियम की विशिष्ट सांद्रता के साथ संसाधित किया जाता है। इससे डीएनए को जीवाणु की कोशिश भित्ति में स्थित छिद्रों से प्रवेश करने में काफी सहायता मिलती है।

परपोषी कोशिकाओं में विजातीय डीएनए को प्रवेश कराने हेतु केवल यही विधि नहीं है। **सूक्ष्म अंतःक्षेपण** (माइक्रोइंजेक्शन) विधि में पुनर्योजन डीएनए को सीधे जंतु कोशिका के केंद्रक के भीतर अंतःक्षेपित किया जाता है। दूसरी विधि जो पौधों के लिए उपयोगी है, कोशिकाओं पर डीएनए से विलेपित, स्वर्ण या टंगस्टन के उच्च वेग सूक्ष्म कणों से बमबारी करते है जिसे **बायोलिस्टीक** या **जीन** गन कहते है।





पुनर्योगज डीएनए प्रोद्योगिकी के प्रक्रम

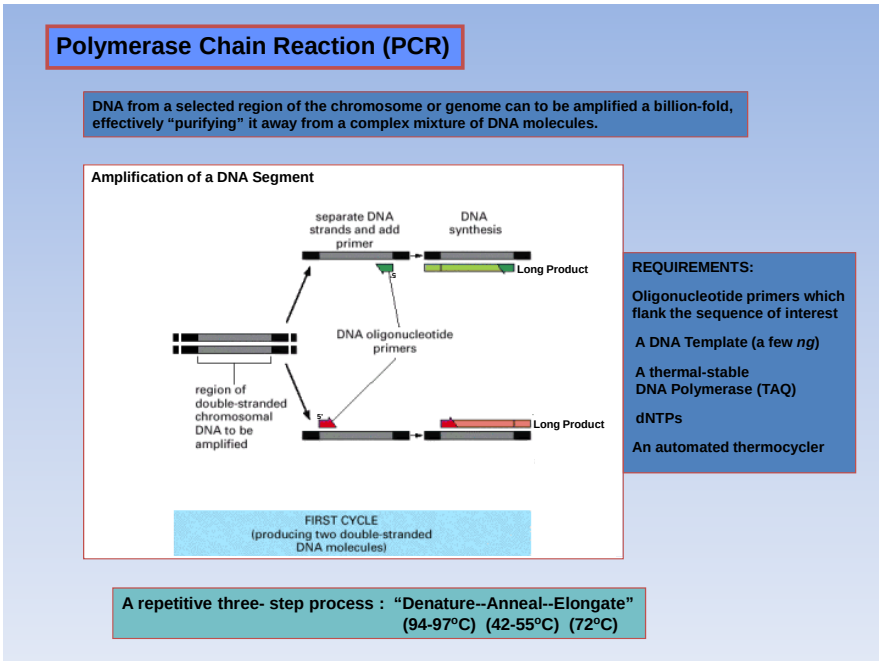
पुनर्योगज डीएनए प्रोद्योगिकी (टेक्नोलॉजी) चरण विशिष्ट अनुक्रम में सम्मिलित है जैसे डीएनए का विलगन (पुथक्करण), डीएनए का खंडन, डीएनए खंड का संवाहक से बंधन, पुनर्योगज डीएनए का परपोषी में स्थानांतरण, परपोषी कोशिकाओं का माध्यम में व्यापक स्तर पर संवर्धन व वंछित उत्पाद का निष्कर्षण।

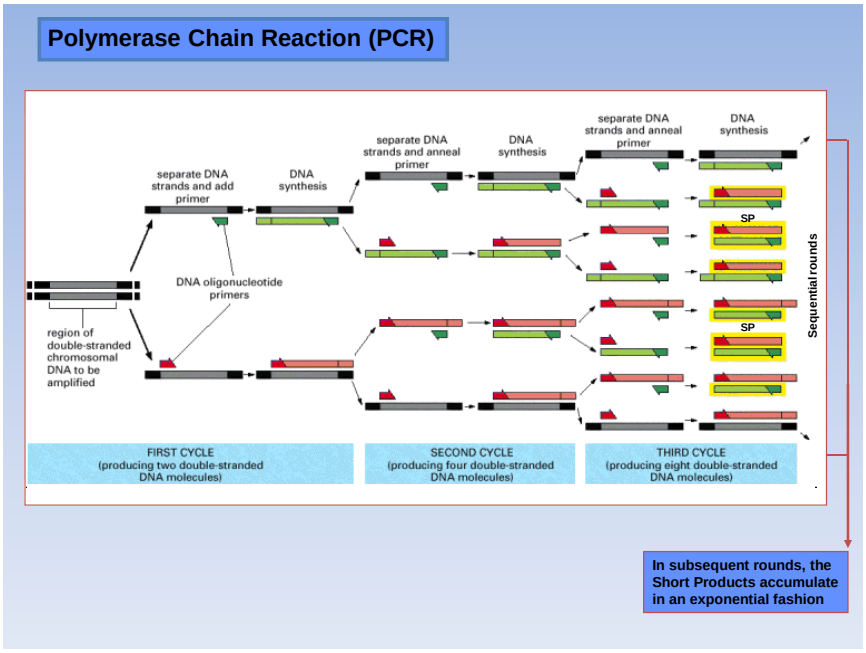
आनुवंशिक पदार्थ (डीएनए) का पृथक्करण

जीन डीएनए के लंबं अणुओं पर स्थित होते हैं व हिस्टोन जैसे प्रोटीनों के साथ गुँथे रहते है। आरएनए को राइबोन्यूक्लियेज से उपचारित कर अलग कर सकते है जबकि प्रोटीन को प्रोटीएज से उपचारित कराने के बाद अलग कर सकते हैं। दूसरे अणुओं को उचित उपचार द्वारा अलग कर सकते हैं। अंततोगत्वा द्रुतशीतित (चिल्ड) एथेनॉल मिलाने से शांधित डीएनए अवक्षेपित (प्रेसिपिटेट) हो जाता है। इसे निलंबन में महीन धागों के समूह के रुप में देख सकते है।

पीसीआर का उपयोग करते हुए लाभकारी जीन का प्रवर्धन

पीसीआर का अर्थ पोलीमरेजचेन रिऐक्शन (पॉलिमरेज श्रृंखला अभिक्रिया) है। इस अभिक्रिया में उपक्रमकों (प्राइमर्स–छोटे रासायनिक संश्लेषित अल्पन्यूक्लियोटाइड जो डीएनए क्षेत्र के पूरक होते है) के दो समुच्चयों (सेट्स) व डीएनए पॉलिमरेज एंजाइम का उपयोग करते हुए पात्रे (इनविट्रो) विधि द्वारा उपयोगी जीन के कई प्रतिकृतियों का संश्लेषण होता है।



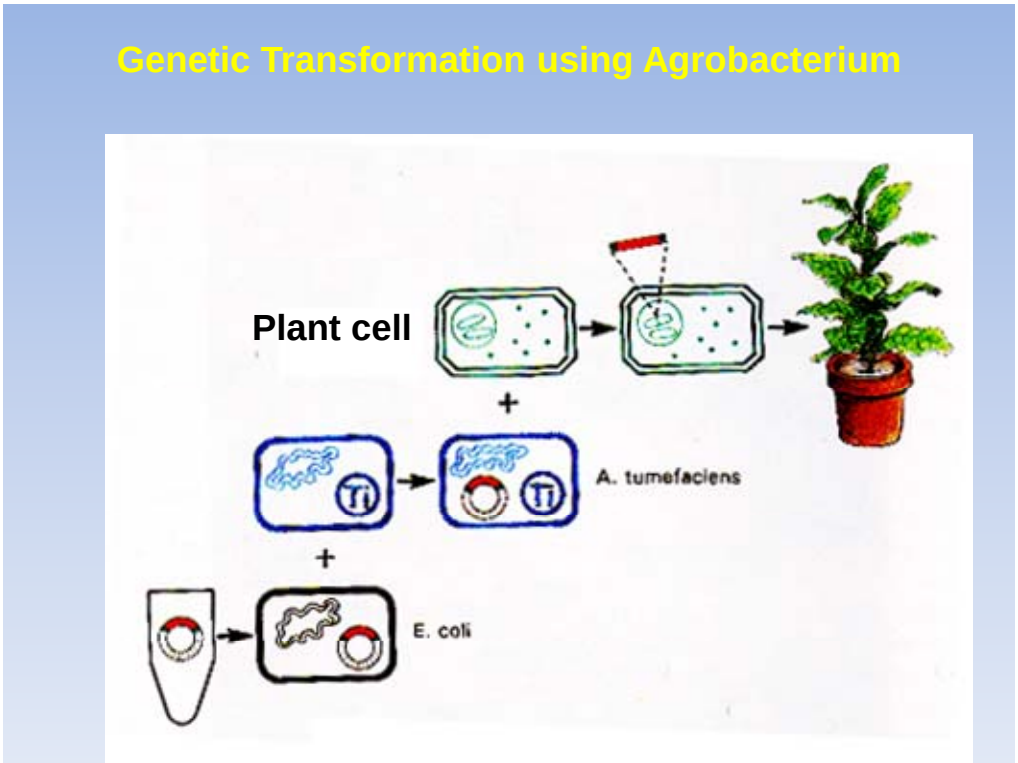


यह एंजाइम जिनोमिक डीएनए को टेंपलेट के रुप में काम में लेकर अभिक्रिया से मिलने वाले न्यूक्लियोटाइडों का उपयोग करते हुए उपक्रामकों को विस्तृत कर देता है। यदि डीएनए प्रतिकृतयेन प्रक्रम कई बार दोहराया जाता है तब डीएनए खंड को लगभग एक अरब गुना (एक बिलियन) प्रवर्धित किया जा सकता है अर्थात

एक अरब प्रतिरुपों का निर्माण होता है। यह ससत् प्रवर्धन तापस्थायी (थर्मोस्टेबल) डीएनए पॉलिमरेज (जीवाणु, थर्मस एक्वेटिकस से पृथक किया गया है) द्वारा किया जाता है।

पुनर्योगज डीएनए का परपोषी कोशिका/जीव में निवेशन

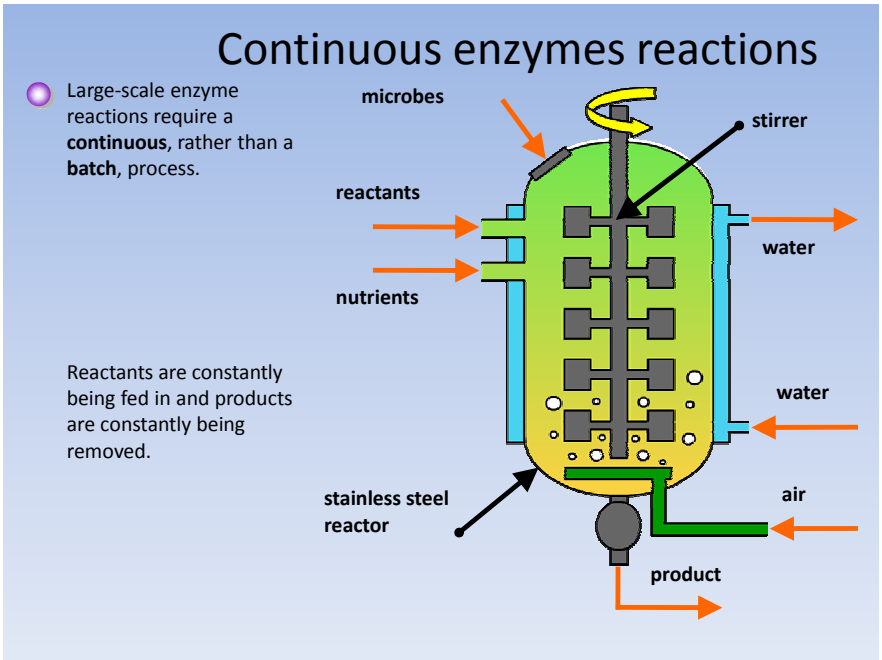
बँधे हुए डीएनए को आदाता कोशिका में प्रवेश कराने की अनेक विधियाँ हैं। यह कार्य जब आदाता कोशिका अपने चारों तरफ स्थित डीएनए को धारण करने में सक्षम हो जाए तब किया जा सकता है। यदि पुनर्योगज डीएनए को जिसमें प्रतिजैविक (उदाहरण–एंपिसिलिन) के प्रति प्रतिरोधी जीन स्थित होता है, ई कोलाई कोशिकाओं में स्थानांतरित किया जाए जो परपोषी कोशिकाएँ प्रतिरोधी कोशिकाओं में रुपांतरित हो जाती है।



बाहरी जीन उत्पाद को प्राप्त करना

लगभग सभी पुनर्योगज प्रौद्योगिकियों का अंतिम उद्देश्य वांछित प्रोटीन का उत्पादन करना ही होता है। इसके लिए पुनर्योगज डीएनए के अभिव्यक्त होने की आवश्यकता होती है। बाहरी जीन उपयुक्त परिस्थितियों में अभिव्यक्त होते हैं।

यदि कोई प्रोटीन कूटलेखन (इनकोडिंग) जीन किसी विषमजात (हेटेरोलोगस) परपोषी में अभिव्यक्त होता है तो इसे "पुनर्योगज प्रोटीन" कहते है। लाभकारी क्लोनित जीनों को आश्रय देने वाली कोशिकाओं का छोटे पैमाने पर प्रयोगशाला में वर्धन किया जा सकता हैं।



कम आयतन संवर्धन से उत्पाद की पर्याप्त मात्रा का उत्पादन नहीं हो सकता। इन उत्पादों के अधिक मात्रा में उत्पादन हेतु बायोरिटन के विकास की आवश्यकता थी, जहाँ सवंर्धन का अधिक आयतन (100–1000लीटर) संशोधित किया जा सके। बायोरिएक्टर, वांछित उत्पाद पाने के लिए, अनुकूलतम परिस्थितियाँ उपलब्ध करता है। वृद्वि के लिए ये अनुकूलतम परिस्थितयाँ है – तापमान, pH, क्रियाधार, लवण, विटामिन, ऑक्सीजन। जो बायोरिएक्टर सामान्यतया सर्वाधिक उपयोग में लाया जाता है। वह विलोडन (स्टिरिंग) प्रकार का हैं।

अनुप्रवाह संसाधन

जैव संश्लेषित अवस्था के पूर्ण होने के बाद परिष्कृत तैयार होने व विपणन के लिए भेजे जाने से पहले कई प्रक्रमों से होकर गुजरता है। इन प्रक्रमों में पृथक्करण व शोधन सम्मिलित है और इसे सामूहिक रुप से अनुप्रवाह संसाधन कहते हैं।

जैव प्रोद्योगिकी के तीन विवेचनात्मक अनुसंधान क्षेत्र हैं। –

(क) उन्नत जीवों जैसे–सूक्ष्मजीवों या शुद्ध एंजाइम के रुप में सर्वोत्तम उत्प्रेरक का निर्माण करना।

(ख) उत्प्रेरक के कार्य हेतु अभियांत्रिकी द्वारा सर्वोत्तम परिस्थितियों का निर्माण करना, तथा

(ग) अनुप्रवाह प्रक्रमण तकनीक का प्रोटीन/कार्बनिक यौगिक के शुद्धीकरण में उपयोग करना।

कृषि में जैव प्रौद्योगिकी का उपयोग

खाद्य उत्पादन में वृद्धि हेतु हम तीन संभावनाओं के बारे में सोच सकते हैं–(क) कृषि रसायन आधारित कृषि (ख) कार्बनिक कृषि और (ग) आनुवंशिकतः निर्मित फसल आधारित कृषि। हरित क्रांति द्वारा खाद्य आपूर्ति में तिंगुनी वृद्धि में सफलता मिलने के बावजूद मनुष्य की बढ़ती जनसंख्या का पेट भर पाना संभव नहीं हैं।

ऐसे पौधे, जीवाणु, कवक व जंतु जिनके जींस हस्तकौशल द्वारा परिवर्तित किए जा चुके है। आनुवंशिकतः रुपांतरित जीव (जेनेटिकली मोडीफाइड आर्गेनाइजेशन) कहलाते हैं। जीएमओ का व्यवहार स्थानांतरित जीन की प्रकृति,

परपोषी पौधों, जंतुओं या जीवाणुओं की प्रकृति व खाद्य जाल पर निर्भर करता है। जीएम पौधों का उपयोग कई प्रकार से लाभदायक है। आनुवंशिक रुपांतरण द्वारा –

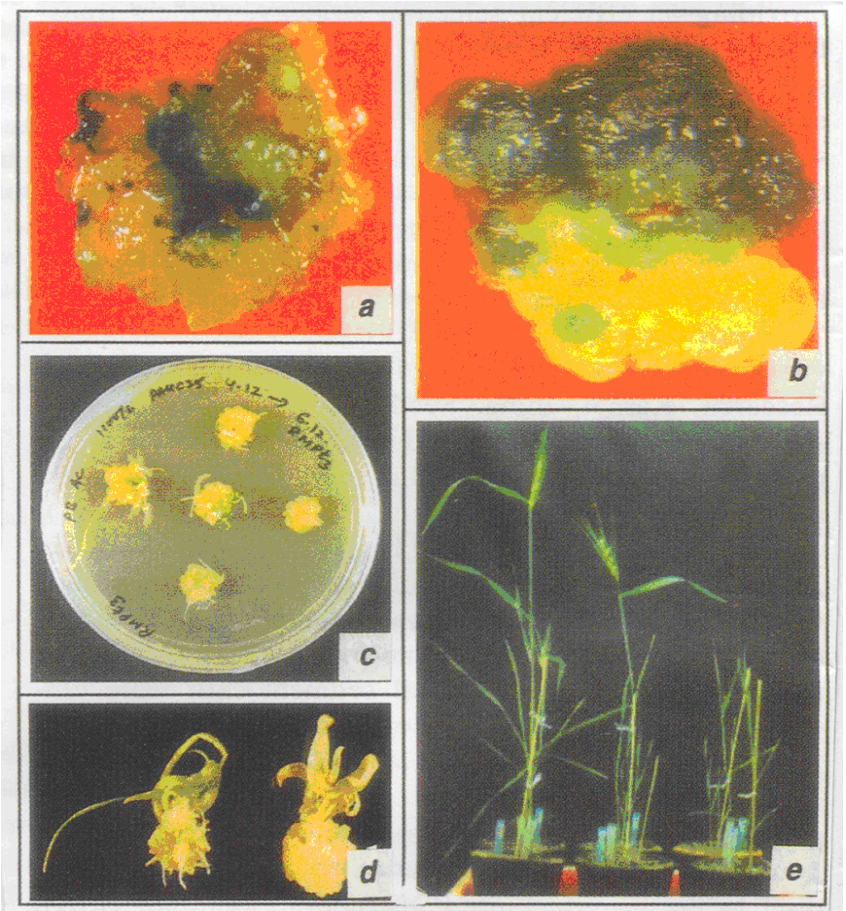
(क) अजैव प्रतिबलों (ठंडा, सूखा, लवण, ताप) के प्रति अधिक सहिष्णु फसलों का निर्माण।

(ख) रासायनिक पीड़कनाशकों पर कम निर्भरता करना (पीड़कनाशी–प्रतिरोधी फसल)

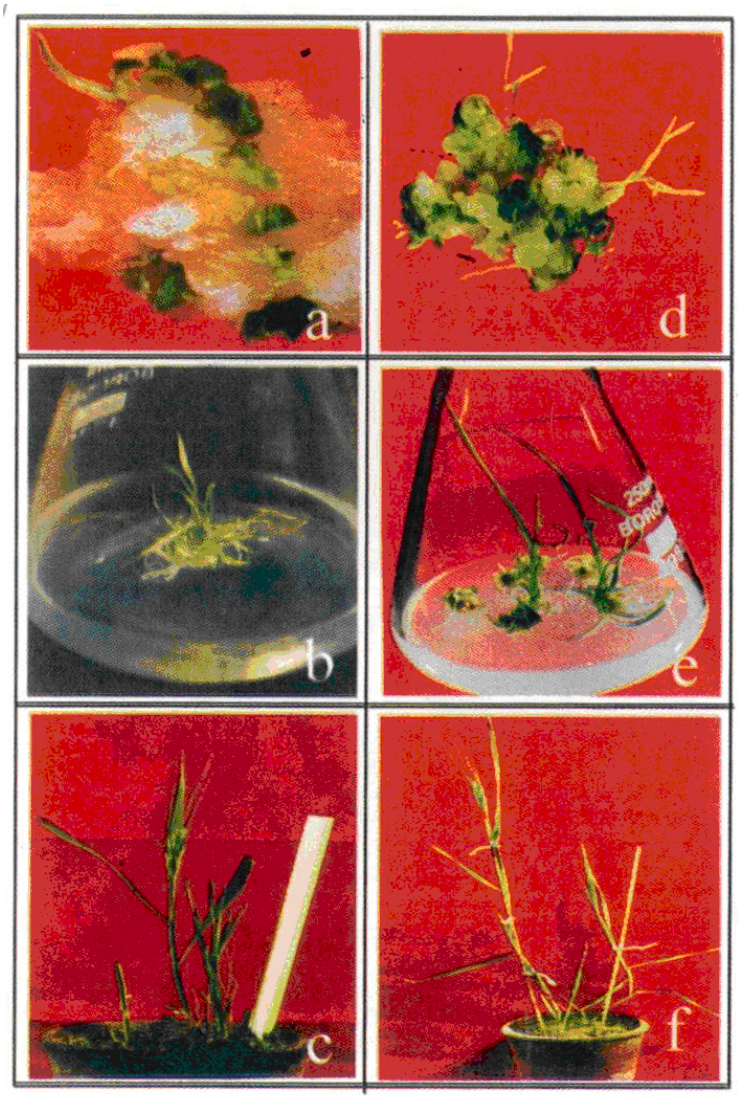
(ग) कटाई पश्चात् होने वाले (अन्नादि) नुकसानें को कम करने में सहायक

(घ) खाद्य पदार्थो के पोषणिक स्तर में वृद्धि (यह शीघ्र मृदा उर्वरता समापन को रोकता है)

(ड.) खाद्य पदार्थो के पोषणिक स्तर में वृद्धि उदाहरणार्थ–विटामिन ए समृद्ध धान ।



Transformation of wheat (*T. aestivum* var. CPAN1676) basal segment calli for herbicide resistance. ***a***, GUS histochemical localization in the callus at 48 h post-bombardment. Calli were bombarded with pAHC25 that carries *bar* gene as the selection marker; ***b***, Callus showing GUS expression after two days of co-cultivation with *Agrobacterium* LBA4404 (pCAMBIA3301) followed by washings and transfer of cultures to MS medium supplemented with 125 mgl^{-1} cefotaxime for three days; ***c***, Explants kept under first stage selection (1.5 or 3 mgl^{-1} phosphinothricin); ***d***, Transformants growing in second stage of selection (1.5 or 3 mgl^{-1} phosphinothricin); ***e***, Mature, putative transformants at seed-set stage.



Regeneration of plantlets from mature (a-c) and immature embryo derived calli (d-f). a and d, Initiation of embryogenic shoots on RM1; b and e, Shoot formation by profuse rooting; c and f, Regenerated plantlets (with inflorescence) after transfer to pots for six weeks.

कृषि में जैव प्रोद्योगिकी के उपयोगों में जिनके बारे में तुम विस्तृत रुप से अध्ययन करोगे वह पीड़क प्रतिरोधी फसलों का निर्माण है जो पीड़कनाशकों की मात्रा को कम प्रयोग में आती है। बीटी (Bt) एक प्रकार का जीवविष है जो एक जीवाणु जिसे बैसीलस थुरीनजिएंसीस (संक्षेप में बीटी) कहते है, से निर्मित होता है। बीटी जीवविष जीन जीवाणु से क्लोनिकृत होकर पौधों मे अभिव्यक्त होकर कीटों (पीड़को) के प्रति प्रतिरोधकता पैदा करता है जिससे कीटनाशकों के उपयोग की आवश्यकता नहीं रहे गई है। इस तरह से जैव–पीड़कनाशकों का निर्माण होता है। उदाहरणार्थ–बीटी कपास, बीटी मक्का, धान, टमाटर, आलू व सोयाबीन आदि।

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

Secondary Lepidopteran Pests

- Occasional pests

Trichoplusia ni

Helicoverpa zea

Heliothis virescens

Estigmene acrea (Arctiidae)

-

Spodoptera exigua

Bucculatrix thurberiella

विशिष्ट बीटी जीव विष जींस बैसीलस थुरीनजिएंसिस से पृथक कर कई फसलों जैसे कपास में समाविष्ट किया जा चुका है।

Safety - Resistance

- Given time & exposure, insects have the capacity to overcome most insecticides. Bt cotton may be no different, however, there are safeguards:
- Refugia
- High-Dose Strategy
- Development of addition proteins

जींस का चुनाव फसल व निर्धारित कीट पर निर्भर करता है, जबकि सर्वाधिक बीटी जीव विष कीट–समूह विशिष्टता पर निर्भर करते हैं। जीव विष जिस जीन द्वारा कूटबद्ध होते है। उसे क्राई कहते हैं। ये कई प्रकार के होते है उदाहरणस्वरुप– जो प्रोटींस जीन क्राई 1 एसी क्राई 2 एबी द्वारा कूटबद्ध होते हैं वे कपास के मुकुल कृमि को नियंत्रित करते हैं जबकि क्राई 1 एबी मक्का छेदक को नियंत्रित करता हैं।

पीड़क प्रतिरोधी पौधा – विभिन्न सूत्रकृमि, मानव सहित जतुओं व कई किस्म के पौधों पर पर परजीवी होते हैं। सूत्रकृमि मिल्वाडेगाइन इनकोगनीशिया तंबाकू के पौधों की जड़ो को सवंमित कर उसकी पैदावार को काफी कम कर देता है। आरएनए अंतरक्षेप सभी समीमकेंद्रकी जीनों में कोशकीय सुरक्षा की एक विधि है। इस विधि में विशिष्ट दूत आरएनए, पूरक द्विसूत्री आरएनए से वर्धित होने के प्श्चात् निष्क्रिय हो जाता है। जिसके फलस्वरुप दूत आरएनए के स्थानांतरण (ट्रांसलेशन) को रोकता है। इस द्विसूत्रीय आरएनए का स्त्रोत, संक्रमण करने वाले विषाणु में पाए जोन वाले पूरक आरएनए जीनोम/पारांतरेक (ट्रांसपॉजान) के प्रतिकृत के उपरांत बनने वाले मध्यवर्ती आरएए हैं।

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

चिकित्सा में जैव प्रोद्योगिकी का उपयोग

पुनर्योगज चिकित्सीय औषधियों का अवांछित प्रतिरक्षात्मक प्रभाव नहीं पड़ता है जबकि ऐसा देखा गया है कि उपरोक्त उत्पाद जो अमानवीय स्त्रोतों से विलगित किए गए है, वे अवाँछित प्रतिरक्षात्मक प्रभाव डालते हैं। वर्तमान समय में लगभग 30 पुनर्योगज औषधियाँ विश्व में मनुष्य के प्रयोग हेतु स्वीकृत हो चुकी हैं। वर्तमान में; इनमें से 12 भारत में विपणित हो रही हैं।

आनुवंशिकतः निर्मित इंसुलीन

वयस्कों में होने वाले मधुमेह का नियंत्रण निश्चित समय अंतराल पर इंसुलीन लेने से ही संभव है। कल्पना करो कि यदि कोई जीवाणु मानव इंसुलीन बना सकता है तो निश्चय ही पूरी प्रक्रिया सरल हो जाएगी। तुम आसानी से ऐसे जीवाणु को अधिक मात्रा में विकसित कर जितना चाहे अपनी आवश्यकता के अनुसार इंसुलीन बना सकते हो।

इंसुलीन दो छोटी पालीपेप्टाइड क्षृंखलाओं का बना होता है, श्रृंखला 'ए' व श्रृंखला 'बी' जो आपस में डाईसल्फाइड बंधों द्वारा जुड़ी होती हैं। 1983 में एली लिली नामक एक अमेरिकी कंपनी ने दो डीएनए अनुक्रमों को तैयार किया जो मानव इंसुलिन की श्रृंखला ए और बी के अनुरुप होती हैं जिसे इ. कोलाई के प्लाज्मिड मे प्रवेश कराकर इंसुलिन श्रृखंलाओं का उत्पादन किया। इन अलग–अलग निर्मित श्रृखंलाओं ए और बी को निकालकर डाईसल्फाइड बंध बनाकर आपस में संयोंजित कर मानव इंसुलिन का निर्माण किया गया।

जीन चिकित्सा

जीन चिकित्सा में उन विधियों का सहयोग लेते हैं जिनके द्वानातप किसी बच्चे या भ्रूण में चिह्नित किए गए जीन दोषों का सुधार किया जाता है। उसमें रोग के उपचार हेतु जीनों को व्यक्ति की कोशिकाओं या ऊतकों में प्रवेश कराया जाता है। आनुवंशिक दोष वाली कोशिकाओं के उपचार हेतु सामान्य जीन को व्यक्ति या भ्रूण में स्थानांतरित करते है जो निष्क्रिय जीन की क्षतिपूर्ति कर उसके कार्यो को संपन्न करते हैं।

जीन चिकित्सा का पहले प्रयोग वर्ष 1990 में चार वर्षीय लड़की में एडीनोसीन डिएमीनेज (एडीए) की कमी को दूर करने के लिए किया गया था। यह एंजाइम प्रतिरक्षातंत्र के कार्य के लिए अति आवश्यक होता हैं। जीन चिकित्सा में सर्वप्रथम रोगी के रक्त से लसीकाणु को निकालकर शरीर से बाहर संवर्धन किया जाता है। सक्रिय एडीए का सी डीएनए (पश्च विषाणु संवाहक का प्रयोगकर) लसीकाणु में प्रवेश कराकर अंत में रोगी के शरीर में वापस कर दिया जाता है। ये कोशिकाएँ मृतप्राय होती है ; इसलिए आनुवंशिक निर्मित लसीकाणुओं को समय–समय पर रोगी के शरीर से अलग करने की आवश्यकता होती है। यदि मज्जा कोशिकाओं से विलगित अच्छे जीनों को प्रारंभिक भ्रूणीय अवस्था की कोशिकाओं से उत्पादित एडीए में प्रवेश करा दिए जाएँ तो यह एक स्थायी उपचार हो सकता है।

आणविक निदान

पुनर्योगज डीएनए प्रौद्योगिकी, पॉजीमरेज श्रृंखला अभिक्रिया व एंजाइम सहलग्न प्रतिरक्षा शोषक आमापन (एलाइजा) कुछ ऐसी तकनीक है जिसके द्वारा रोग की प्रारंभिक पहचान की जा सकती है।

रोग जनक (जीवाणु विषाणु आदि) की उपस्थिति का सामान्यतया तब पता चलता है जब उसके द्वारा उत्पन्न रोग के लक्षण दिखाई देने लगते है। जब बहुत कम संख्या में जीवाणु या विषाणु (उस समय जब रोग के लक्षण स्पष्ट दिखाई नहीं देते) हो जब उनकी पहचान पीसीआर द्वारा उनके न्यूक्लिक अम्ल के प्रवर्धन (एंप्लीफिकेशन) द्वारा कर सकते हैं।

डीएनए या आरएनए की एकल श्रृंखला से एक विकिरण सक्रिय अणु (संपरीक्षित्र) जुड़कर कोशिकाओं के क्लोन में अपने पूरक डीएनए से संकरित होते हैं, जिसे बाद में स्वविकिरणी चित्रण (आटोरेडियोग्राफी) द्वारा पहचानते हैं। क्लोन जिसमें उत्परिवर्तित जीन मिलते हैं। छायाचित्र पटल (फोटोग्रैफिक फिल्म) पर दिखाई नहीं देते है ; क्योंकि संपरीक्षित (प्रोब) व उत्परिवर्तित जीन आपस में एक दूसरे के पूरक नहीं होते हैं।

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

पारजीवी जंतु (ट्रांसजेनिक एनिमल्स)

ऐसे जंतुओं जिनके डीएनए में परिचालन द्वारा एक अतिरिक्त (बाहरी) जीन व्यवस्थित होता है जो अपना लक्षण व्यक्त करता है उसे पारजीवी जंतु कहते हैं। पारजीवी चूहें, खरगोश, सूअर, भेड़, गाय व मछलियाँ आदि पैदा हो चुके है उसके बावजूद उपस्थित पारजीवी जंतुओं में 95 प्रतिशत से अधिक चूहे हैं।

(क) सामान्य शरीर क्रिया व विकास – पारजीवी जंतुओं का निर्माण विशेषरुप से इस प्रकार किया जाता है जिनमं जीनों के नियंत्रण व इनका शरीर के विकास व सामान्य कार्यों पर पड़ने वाले प्रभावों का अध्ययन किया जाता है;

(ख) अनेकों पारजीवी जंतु इस प्रकार निर्मित किए जाते हैं जिनसे रोग के विकास मे जीन की भूमिका क्या होती है ?

(ग) कुछ मानव रोगों के उपचार के लिए औषधि की आवश्यकता होती है जो जैविक उत्पाद से बनी होती है। ऐसे उत्पादों को बनाना अक्सर बहुत महँगा होता है। पारजीवी जंतु जो उपयोगी जैविक उत्पाद का निर्माण करते हैं उनके डीएनए के ? भाग (जीनों) को प्रवेश कराते हैं जो विशेष उत्पाद के निर्माण में भाग लेते है। उदाहरण–मानव प्रोटीन (अल्का–1 एंटीट्रिप्सीन) का उपयोग इंफासीमा के निदान में होता है। ठीक उसी तरह का प्रयास फिनाइल कीटोनूरिया (पीकेयू) व पुटीय रेशामयता के निदान हेतु किया गया हैं। वर्ष 1977 में सर्वप्रथम पारजीवी गाय 'रोजी' मानव प्रोटीन संपन्न दुग्ध (2.4 ग्राम प्रति लीटर) प्राप्त किया गया। इस दूध में मानव अल्फा–लेक्टएल्बुरिम मिलता है जो मानव शिशु हेतु अत्यधिक संतुलित पोषक तत्त्व है जो साधारण गाय के दूध में नहीं मिलता है।

(घ) **टीका सुरक्षा** – टीकों का मानव पर प्रयोग करने से पहले टीके की सुरक्षा जाँच के लिए पारजीवी चूहों को विकसित किया गया है।

(ड.) **रासायनिक सुरक्षा परीक्षण**– यह आविषालुता सुरक्षा परीक्षण कहलाता है। यह वही विधि है जो औषधि आविषालुता परीक्षण हेतु प्रयोग में लाई जाती हैं। पारजीवी जंतुओं में मिलने वाले कुछ जीन इसे आविषालु पदार्थो के प्रति अतिसंवेदनशील बनाते हैं। जबकि अपारजीवी जंतुओं में ऐसा नहीं है।

नैतिक मुद्दे

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

बासमती धान अपनी सुगंध व स्वाद के लिए मशहूर है और इसकी 27 पहचानी गयी किस्में भारत में उगायी जाती है। पुराने ग्रंथो, लोकसाहित्य व कविताओं में बासमती का वर्णन मिलता है, जिसमें यह पता चलता है कि यह कई सी वर्ष पहले से उगाया जाता रहा है। वर्ष 1977 में एक अमेरिकी कंपनी ने बासमती धान पर अमेरिकन एकस्व व ट्रेडमार्क कार्यालय द्वारा एकस्व अधिकार प्राप्त कर लिया था।

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

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