अध्याय 11 | जैव प्रौद्योगिकी—सिद्धान्त व प्रक्रम

(Biotechnology : Principles and Processes)

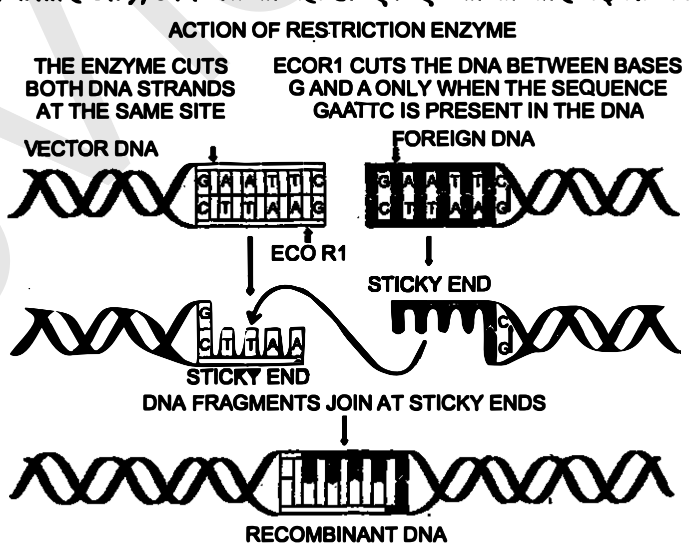
NCERT पाठ्यपुस्तक के अभ्यास के अन्तर्गत दिए गए प्रश्न एवं उनके उत्तर

प्रश्न 1. क्या आप दस पुनर्योगज प्रोटीन के बारे में बता सकते हैं जो चिकित्सीय व्यवहार के काम में लाए जाते हैं? पता लगाइए कि वे चिकित्सीय औषधि के रूप में कहाँ प्रयोग किए जाते हैं? इण्टरनेट की सहायता लीजिए।

उत्तर :

क्र० सं०	पुनर्योगज प्रोटीन	उपचार के प्रयोग
1.	मानव इन्सुलिन (ह्यूमुलिन)	मधुमेह के उपचार में।
2.	मानव वृद्धि हॉर्मोन (hGH)	बौनेपन के उपचार में।
3.	इण्टरफेरॉन	विषाणु संक्रमण व कैंसर रोगों के उपचार में।
4.	फॉलिकिल स्टिमुलेटिंग हॉर्मोन FSH	प्रजनन तन्त्र से जुड़े रोगों के उपचार में
5.	इण्टरल्यूसिन-2	कैंसर के उपचार में।
6.	फैक्टर VIII व IX	हीमोफीलिया के उपचार में
7.	टिशु प्लाज्मिनोजन एक्टिवेटर (TPA)	मायोकार्डियल इन्फार्कशन (हृदय पेशी रोग या हृदयाघात)।
8.	ऐल्फा गैलैक्टोसाइड्स-A	पेट रोगों के उपचार में एन्जाइम रिप्लेसमैन्ट थेरेपी।
9.	यूरोगैस्ट्रोन	घाव भरने हेतु।
10.	एरिथोप्रोइटिन (Erythropoietin)	रुधिरहीनता के उपचार में।

प्रश्न 2. एक सचित्र (चार्ट) (आरेखित निरूपण के साथ) बनाइए जो प्रतिबन्धन एन्जाइम को (जिस क्रियाधार डी०एन०ए० पर यह कार्य करता है उसे), उन स्थलों को जहाँ डी०एन०ए० को काटता है व इनसे उत्पन्न उत्पाद को दर्शाता है।



चित्र-11.1 : प्रतिबन्धन एन्जाइम इको आर वन (ECO R I) की क्रिया का पुनर्योगज के निर्माण के चरण।

प्रश्न 3. कक्षा ग्यारहवीं में जो आप पढ़ चुके हैं, उसके आधार पर क्या आप बता सकते हैं कि आण्विक आकार के आधार पर एन्जाइम्स बड़े हैं या डी०एन०ए०। आप इसके बारे में कैसे पता लगाएँगे?

उत्तर : डी०एन०ए० के जैविक-वृहदाणु (biological macromolecules) जटिल संरचना वाले होते हैं। ये प्रोटीन्स (एन्जाइम) से भी बड़े **जैविक गुरुअणु** होते हैं। एक पॉलिपेप्टाइड या प्रोटीन के संश्लेषण सम्बन्धी सारी सूचना एक डी०एन०ए० खण्ड (जीन) में होती है। एक डी०एन०ए० में हजारों जीन होते हैं। इसका अर्थ है हजारों प्रोटीनों के निर्माण से सम्बन्धित सूचना डी०एन०ए० में होती है। अत: डी०एन०ए० ही बड़ा अणु है।

प्रश्न 4. मानव की एक कोशिका में डी०एन०ए० की मोलर सान्द्रता क्या होगी? अपने अध्यापक से परामर्श लीजिए।

उत्तर : मोलर सान्द्रता (Molar concentration)—किसी पदार्थ की सान्द्रता प्रति इकाई आयतन में उसकी मात्रा की माप होती है। इसे सामान्यतया **मोलरता** (molarity) के पदों में व्यक्त किया जाता है। किसी पदार्थ की मोलरता एक लीटर आयतन में उपस्थित उसके अणुओं की संख्या होती है। इसका मात्रक **mol/L** होता है।

एक मानव कोशिका (द्विगुणित) में डी०एन०ए० की मोलर सान्द्रता = कुल क्रोमोसोम संख्या $\times 6.023 \times 10^{23}$

$= 46 \times 6.023 \times 10^{23} = 2.7 \times 10^{18}$ मोल

(DNA का एक मोल $= 6.023 \times 10^{23}$ DNA अणु)

प्रश्न 5. क्या सुकेन्द्रकी कोशिकाओं में प्रतिबन्धन एण्डोन्यूक्लिएज मिलते हैं? अपने उत्तर को सही सिद्ध कीजिए।

उत्तर : नहीं; सुकेन्द्रकी कोशिकाओं में **प्रतिबन्धन एण्डोन्यूक्लिएज** (restriction endonuclease) नहीं मिलते हैं। ये कुछ जीवाणुओं में आक्रमणकारी जीवाणुभोजियों के डी०एन०ए० से अपनी रक्षा करने हेतु उपस्थित रहते हैं। ये जीवाणुभोजी की वृद्धि को रोक देते हैं। यह एंन्जाइम डी०एन०ए० को काटता है। सुकेन्द्रकी कोशिकाओं में डी०एन०ए० मिथाइलेटेड होता है जो रेस्ट्रिक्शन एन्जाइम से अपनी रक्षा कर सकता है।

प्रश्न 6. अच्छे वातन (aeration) व मिश्रित करने के गुण के अतिरिक्त स्टिर्ड टैंक बायोरिऐक्टर की रोटेटर पर हिलने वाले फ्लास्क या कम्पन फ्लास्क (shake flask) की तुलना में क्या अच्छाइयाँ हैं?

उत्तर : (i) बायोरिऐक्टर में किसी पुनर्योगज प्रोटीन का व्यावसायिक स्तर पर उत्पादन किया जा सकता है जो छोटे से फ्लास्क द्वारा नहीं हो सकता।

(ii) जैव रिऐक्टर में pH, तापमान आदि के नियन्त्रण हेतु व्यवस्था होती है।

(iii) इसमें फोम ब्रेकर होता है।

(iv) समय-समय पर प्रदर्श निकालकर उनकी जाँच की जा सकती है।

प्रश्न 7. शिक्षक से परामर्श कर पाँच पैलिन्ड्रोमिक अनुक्रम उदाहरण एकत्रित कीजिए बेहतर होगा कि क्षारक-युग्म नियमों का पालन करते हुए आप स्वयं पैलिन्ड्रोमिक अनुक्रम बनाएँ।

उत्तर : पैलिन्ड्रोम (Palindromes)—वे वर्णों के समूह जिन्हें आगे व पीछे से पढ़ने पर एक ही शब्द बनता है जैसे—'**मलयालम**'। लेकिन डी०एन०ए० में पैलिंड्रोम क्षारक युग्मों का एक ऐसा अनुक्रम है जो पढ़ने के अभिविन्यास को समान रखने पर दोनों लड़ियों में एक जैसा पढ़ा जाता है जैसे—5' GAATTC 3' 3' CTTAAG 5' इसमें अनुक्रम GAATTC को 5' → 3' दिशा में पढ़ने पर दोनों लड़ियों में एक जैसा पढ़ा जाएगा। अगर इसे 3' → 5' दिशा में पढ़ा जाए, तब भी यह बात सही बैठती है।

उदाहरण—

Eco RI	5' G↓AATTC 3'	3' CTTAA↑G 5'
Alu I	5' AG↓CT 3'	3' TC↑GA 5'
Pst I	5' CTGCA↓G 3'	3' G↑ACGTC 5'
BamHI	5' G↓GATCC 3'	3' CCTAG↑G 5'
Hind III	5' A↓AGCTT 3'	3' TTCGA↑A 5'

प्रश्न 8. अर्द्धसूत्री विभाजन को ध्यान में रखते हुए क्या बता सकते हैं कि पुनर्योगज डी०एन०ए० किस अवस्था में बनते हैं?

उत्तर : प्रथम अर्द्धसूत्री विभाजन की प्रथम पूर्वावस्था (Ist prophase) **पैकिटीन** (pachytene) उपअवस्था में **सूत्रयुग्मक सम्मिश्र** (synaptonemal complex) में एक या अधिक स्थानों पर गोल सूक्ष्म घुण्डियाँ दिखाई देने लगती हैं, इन्हें **पुनर्संयोजन घुण्डियाँ** (recombination nodules) कहते हैं। समजात गुणसूत्रों के परस्पर जुड़े **क्रोमैटिड्स** (chromatids) के मध्य एक या अधिक खण्डों की पारस्परिक अदला-बदली को **क्रॉसिंग ओवर** कहते हैं। इससे समजात **पुनर्संयोजित डी०एन०ए०** (recombinant DNA) बन जाता है। पुनर्संयोजन घुण्डियाँ उन स्थानों पर बनती हैं जहाँ पर पारगमन हेतु क्रोमैटिड्स के टुकड़े टूटकर पुन: जुड़ते हैं।

प्रश्न 9. क्या आप बता सकते हैं कि कैसे प्रतिवेदक (रिपोर्टर) एन्जाइम का प्रयोग वरणयोग्य चिह्नक के अतिरिक्त बाहरी डी०एन०ए० परपोषी कोशिकाओं के रूपान्तरण को मॉनिटर करने के लिए किस प्रकार उपयोग में लाया जा सकता है?

उत्तर : एन्जाइम बीटा गैलेक्टोसाइडेज को कोड करने वाली जीन को **रिपोर्टरजीन** कहा जाता है। इसका प्रयोग एक वरण योग्य चिह्नक के रूप में किया जा सकता है। यह इस बात का संकेत दे सकती है कि कोशिका ने वांछित जीन ग्रहण कर ली है या नहीं। इसका अर्थ है कि इन जीनों द्वारा पुनर्योगित कोशिका (recombinant) की पहचान की जा सकती है।

चिह्नक जीन किसी रंग पैदा करने वाले (chromagenic) पदार्थ की उपस्थिति में रंग पैदा करती है। एन्जाइम बीटा गैलेक्टोसाइडेज रंग पैदा करने वाले पदार्थ की उपस्थिति में नीला रंग पैदा करता है। अगर नीला रंग बनता है तो इसका अर्थ है कि जीन अपने वास्तविक रूप में उपस्थित है व इसमें कोई परिवर्तन नहीं हुआ है (विजातीय डी०एन०ए० इसमें प्रविष्ट नहीं हुआ है)। लेकिन इस जीन में विजातीय डी०एन०ए० समाकलित कर देने पर यह निष्क्रिय हो जाती है, फलस्वरूप इससे बीटा गैलेक्टोसाइडेज का उत्पादन नहीं होता। इस एन्जाइम की उपस्थिति में जीवाणु की सफेद कॉलोनी बनती हैं। सफेद कॉलोनी यह सिद्ध करती है कि जीन का निष्क्रियकरण हो गया है। यह विधि एण्टीबायोटिक प्रतिरोधकता जीन को वरण योग्य चिह्नक की तरह प्रयोग करने की अपेक्षा कम जटिल है।

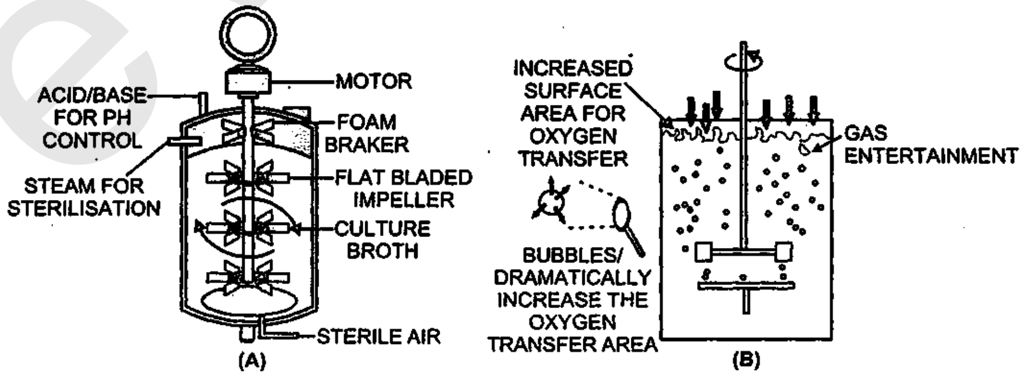
प्रश्न 10. निम्नलिखित का संक्षिप्त वर्णन कीजिए—

(क) प्रतिकृतीयन का उद्भव, (ख) बायोरिऐक्टर, (ग) अनुप्रवाह संसाधन।

उत्तर : (क) प्रतिकृतीयन का उद्भव (Origin of Replication)—यह किसी भी वाहक का आवश्यक स्थल है। यह वह अनुक्रम है जहाँ से प्रतिकृतीयन (replication) की शुरुआत होती है। जब कोई डी०एन०ए० का खण्ड इस अनुक्रम से जुड़ जाता है, तब परपोषी कोशिकाओं के अन्दर प्रतिकृति बना सकता है। यह अनुक्रम जोड़े गए डी०एन०ए० के प्रतिरूपों की संख्या के नियन्त्रण के लिए भी उत्तरदायी है। अत: यदि कोई लक्ष्य (target) डी०एन०ए० की काफी संख्या प्राप्त करना चाहता है तो इसे ऐसे संवाहक में क्लोन (clone) करना चाहिए जिसका उत्पत्ति स्थल या ओरि (ori) अत्यधिक प्रतिरूप बनाने में सहयोग करता है।

(ख) बायोरिऐक्टर (Bioreactors)—यह एक स्टेनलेस स्टील से बना बड़ा बर्तन के समान है जिसमें सूक्ष्मजीवों, पौधों, जन्तुओं व मानव कोशिकाओं का उपयोग करते हुए कच्चे माल को जैव रूप से विशिष्ट उत्पाद व्यष्टि एन्जाइम आदि में परिवर्तित किया जाता है। बायोरिऐक्टर वांछित उत्पाद पाने के लिए अनुकूलतम परिस्थितियाँ उपलब्ध कराता है; जैसे—तापमान, pH, क्रियाधार, लवण, विटामिन, ऑक्सीजन आदि। **सर्वाधिक प्रयोग में लाया जाने वाला बायोरिऐक्टर विलोडन (स्टिरिंग) प्रकार का है।**

ये सामान्यतया बेलनाकार होते हैं। इनके आधार घुमावदार होने से रिऐक्टर के अन्दर अन्तर्वस्तु के मिश्रण में सहायता मिलती है। विलोडक बायोरिऐक्टर (Stirred tank bioreactor) में ऑक्सीजन उपलब्धता व उसके मिश्रण का काम करते हैं। स्पार्ज्ड स्टिर्ड टैंक बायोरिऐक्टर में हवा बुलबुले के रूप में भेजी जा सकती है। रिऐक्टर में एक प्रक्षोभक तन्त्र (agitator system), ऑक्सीजन प्रदाय तन्त्र, झाग नियन्त्रण तन्त्र (foam control system), पी-एच० नियन्त्रण तन्त्र (pH control system) व प्रतिचयन प्रद्वार (sampling port) लगा होता है जिससे संवर्धन की थोड़ी मात्रा समय-समय पर निकाली जा सकती है।



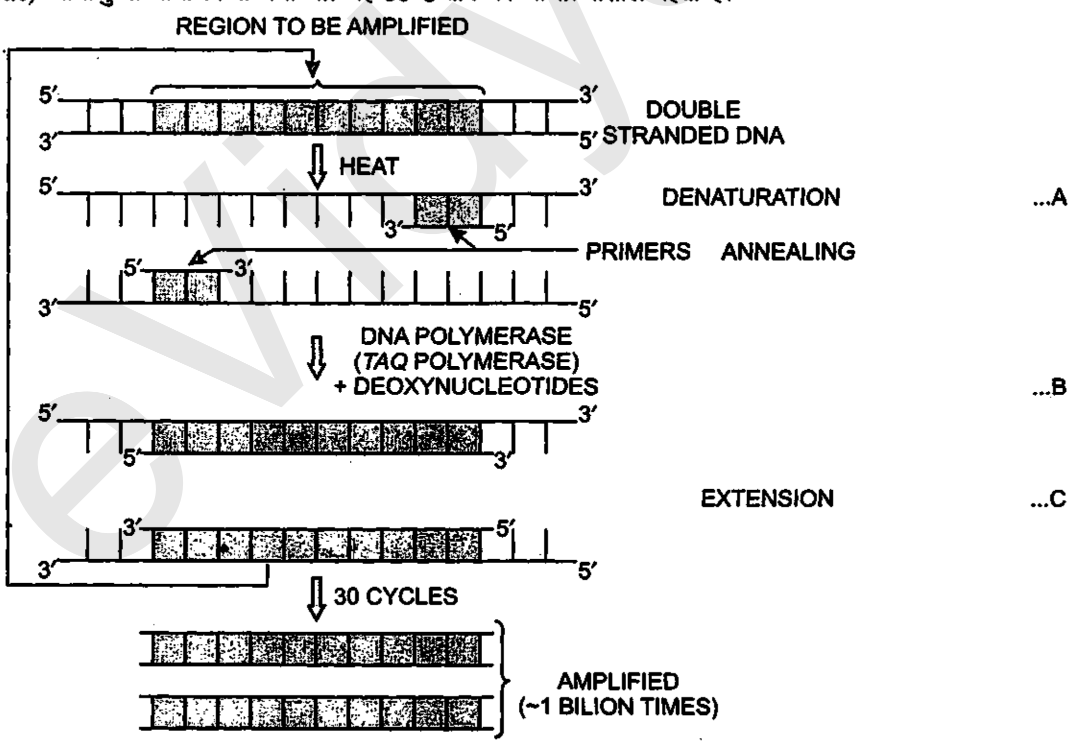
चित्र 11.2 : (A) साधारण विलोडन हौज बायोरिऐक्टर; (B) दण्ड विलोडक हौज बायोरिऐक्टर जिसके द्वारा जीवाणुविहीन हवा के बुलबुलों का प्रवेश।

(ग) अनुप्रवाह संसाधन (Down-stream Processing)—जैव संश्लेषित अवस्था के पूर्ण होने के बाद परिष्कृत उत्पाद तैयार होने व विपणन के लिए भेजे जाने से पहले कई प्रक्रमों से होकर गुजरता है। इनमें पृथक्करण (separation) व शोधन (purification) सम्मिलित होते हैं। इसे सामूहिक रूप से **अनुप्रवाह संसाधन** (down-stream processing) कहते हैं। उत्पाद को उचित परिरक्षक के साथ संरूपित करते हैं। औषधि के मामले में ऐसे संरूपण को **चिकित्सीय परीक्षण** से गुजारते हैं। प्रत्येक उत्पाद के लिए सुनिश्चित गुणवत्ता नियन्त्रण परीक्षण की आवश्यकता होती है। यह प्रत्येक उत्पाद के लिए भिन्न-भिन्न होता है।

प्रश्न 11. संक्षेप में बताइए—

(क) पी०सी०आर०, (ख) प्रतिबन्धन एन्जाइम और डी०एन०ए०, (ग) काइटिनेज।

उत्तर : (क) पी०सी०आर० (PCR)—पी०सी०आर० का अर्थ **पॉलिमरेज चेन रिएक्शन (पॉलिमरेज शृंखला अभिक्रिया)** है। यह कम मात्रा में उपलब्ध किसी डी०एन०ए० खण्ड की आवर्धन (amplifi- cation) विधि है। इस अभिक्रिया में डी०एन०ए० पॉलिमरेज एन्जाइम का उपयोग करते हुए **पात्रे (इन विट्रो)** विधि द्वारा उपयोगी जीन की अनेक **प्रतिकृतियों का संश्लेषण** होता है। यह एन्जाइम जीनोमिक डी०एन०ए० (Genomic DNA) को **टेम्पलेट** (template) के रूप में प्रयुक्त कर अभिक्रिया से मिलने वाले न्यूक्लियोटाइड्स (nucleotides) का उपयोग करते हुए उपक्रमकों को विस्तृत कर देता है, यदि **डी०एन०ए० प्रतिकृतीयन प्रक्रम** (DNA replication process) कई बार दोहराया जाता है। तब डी०एन०ए० खण्ड को लगभग एक अरब गुना प्रवर्धित किया जा सकता है अर्थात् एक अरब प्रतिरूपों का निर्माण होता है। इस प्रक्रिया में सर्वप्रथम 90– 98°C ताप के कारण DNA विकृत हो जाता है अर्थात् इसके दोनों रज्जुक एक-दूसरे से पृथक् हो जाते हैं। फिर धीरे-धीरे तापमान को कम करके 40° – 60°C तक लाते हैं। इस ताप पर DNA के रज्जुक प्राइमर के साथ जुड़कर पुन: DNA अणु का निर्माण करते हैं। डी०एन०ए० की दोनों शृंखलाओं से प्राइमरों के जुड़ने को एनीलिंग (annealing) कहा जाता है। उपकरण में चारों प्रकार के न्यूक्लियोटाइड ट्राइफॉस्फेटों के रूप में डाले जाते हैं। इस प्रकार एक प्रक्रम में दो DNA अणुओं का निर्माण हो जाता है। इस प्रक्रिया में Taq डी०एन०ए० पॉलिमरेज एन्जाइम की उपस्थिति में होता है। इस एन्जाइम को ***थर्मस एक्वाटिकस*** *(Tharmus aquaticus)* जीवाणु से प्राप्त किया गया था। यह 90°C ताप पर भी क्रियाशील रहता है।



चित्र-11.3 : पॉलिमरेज शृंखला अभिक्रिया (पी०सी०आर०) का प्रदर्शन—प्रत्येक चक्र में तीन चरण हैं—
(A) निष्क्रियकरण (B) उपक्रमक तापानुशीलता व (C) उपक्रमकों का विस्तार।

(ख) प्रतिबन्धन एन्जाइम और डी०एन०ए० (Restriction Enzyme and DNA)—वर्ष 1963 में दो एन्जाइम पृथक् किए गए जो *ई० कोलाई* में जीवाणुभोजी की वृद्धि को रोक देते हैं। इनमें एक डी०एन०ए० से मेथिल समूह (methyl group) को जोड़ता है, जबकि दूसरा डी०एन०ए० को काटता है। इन्हें **रासायनिक चाकू** या **आण्विक कैंची** कहा जाता है। DNA अणु को काटने वाले एन्जाइम को **प्रतिबन्धन एण्डोन्यूक्लिएज** (restriction endonuclease) कहा गया। यह जीवाणुओं की सुरक्षा प्रणाली का हिस्सा है। प्रतिबन्धन एन्जाइम की खोज से डी०एन०ए० को विशिष्ट जगहों (अभिज्ञान स्थलों) पर काटना सम्भव हो सका। कटे हुए डी०एन०ए० का भाग **प्लाज्मिड डी०एन०ए०** (Plasmid DNA) से जोड़ा जाता है। यह प्लाज्मिड डी०एन०ए० संवाहक की तरह कार्य करता है जो इससे जुड़े डी०एन०ए० को स्थानान्तरित करता है। इनका उपयोग आनुवंशिक इन्जीनियरिंग में किया जाता है।

(ग) काइटिनेज (Chitinase)—यह एक प्रकार का **एन्जाइम** है जो काइटिन (कवकों की कोशिका भित्ति के पॉलिसैकेराइड) के पाचन के लिए आवश्यक होता है। अगर डी०एन०ए० को कवक कोशिकाओं से प्राप्त करना हो तब काइटिनेज एन्जाइम का सर्वप्रथम प्रयोग किया जाता है। बाद में डी०एन०ए० से प्रोटीन व RNA आदि अलग करने के लिए प्रोटिएज व RNAase प्रयोग किए जाते हैं।

प्रश्न 12. अपने अध्यापक से चर्चा करके पता लगाइए कि निम्नलिखित के बीच कैसे भेद करेंगे—

(क) प्लाज्मिड डी०एन०ए० और गुणसूत्रीय डी०एन०ए०

(ख) आर०एन०ए० और डी०एन०ए०

(ग) एक्सोन्यूक्लिएज और एण्डोन्यूक्लिएज।

उत्तर :

(क) प्लाज्मिड डी०एन०ए० व गुणसूत्रीय डी०एन०ए० में अन्तर

(Differences between Plasmid DNA and Chromosomal DNA)

क्र० सं०	प्लाज्मिड डी०एन०ए०	गुणसूत्रीय डी०एन०ए० (जीवाणु का)
1.	यह आकार में छोटा होता है अत: जीन की संख्या कम होती हैं (30 से कम)।	आकार में बड़ा होता है अत: जीन की संख्या अधिक होती है।
2.	संख्या में एक से लेकर 100 या अधिक।	संख्या में एक।
3.	यह जीवित रहने के लिए आवश्यक नहीं। किन्तु कुछ अतिरिक्त क्षमताएँ प्रदान करता है। प्रोटीन नहीं होती।	जीवाणु के जीवन के लिए आवश्यक होता है। कुछ प्रोटीन्स जुड़ी होती है।
4.	एण्टीबायोटिक प्रतिरोधकता जीन उपस्थित। इनका स्वत: प्रतिकृतिकरण होता है।	प्रतिरोधकता जीन अनुपस्थित।
5.	समयुग्मन (conjugation) में भाग लेते हैं।	समयुग्मन में भाग नहीं लेते।

(ख) आर०एन०ए० और डी०एन०ए० में अन्तर

(Differences between DNA and RNA)

क्र० सं०	डी०एन०ए०	आर०एन०ए०
1.	डी०एन०ए० में **डिऑक्सीराइबोस शर्करा** होती है।	आर०एन०ए० में **राइबोस शर्करा** होती है।
2.	इसमें पिरिमिडीन क्षारक एडीनीन तथा थाइमीन होते हैं। ये अधिक स्थायी होते हैं।	इसमें पिरिमिडीन क्षारक एडीनीन तथा **यूरेसिल** होते हैं। तुलनात्मक रूप से कम स्थायी होता है।
3.	एडीनीन की मात्रा थाइमीन के बराबर तथा साइटोसीन की मात्रा ग्वानीन के बराबर होती है।	यह आवश्यक नहीं कि एडीनीन एवं थाइमीन की मात्रा तथा ग्वानीन एवं साइटोसीन की मात्रा बराबर हो।
4.	यह प्राय: **द्विरज्जुक** होता है।	यह प्राय: **एकरज्जुक** होता है।
5.	यह स्वयं प्रतिकृत (replicated) हो सकता है।	यह प्राय: स्वयं प्रतिकृत नहीं हो सकता है। इसका निर्माण डी०एन०ए० द्वारा होता है।
6.	सभी कोशिकीय जीवों में आनुवंशिक पदार्थ होता है।	केवल कुछ विषाणुओं में आनुवंशिक पदार्थ है।

(ग) एक्सोन्यूक्लिएज और एण्डोन्यूक्लिएज में अन्तर (Difference between Exonuclease and Endonuclease)—एक्सोन्यूक्लिएज डी०एन०ए० के सिरे से न्यूक्लियोटाइड्स को अलग करते हैं, जबकि **एण्डोन्यूक्लिएज** डी०एन०ए० को भीतर विशिष्ट स्थलों पर काटते हैं। यह केवल जीवाणुओं में पाए जाते हैं।