● Biotechnology (जैव प्रौद्योगिकी या बायोटेक्नोलॉजी):-

→ विज्ञान की वह शाखा जिसमें जैव-विज्ञान एवं इन्जीनियरिंग के सिद्धान्तों का सम्मिलित प्रयोग जैविक कारकों से उपयोगी उत्पादों को प्राप्त करने के लिए किया जाता है, उसे जैव-प्रौद्योगिकी (Biotechnology) कहते हैं।

→ EFB (यूरोपीय संघ) के अनुसार जैव तकनीक (biotechnology) प्राकृतिक विज्ञान है, जिसमें जीवधारियों, कोशिकाओं, अंगों तथा आणविक अणुओं का समायोजन एवं जैविक तकनीकियों का उपयोग करके मानव कल्याण हेतु औषधियों तथा उद्योगों में इस्तेमाल किये जाने वाले उत्पादों को प्राप्त करने में किया जाता है।

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

→ EFB = The European federation of Biotechnology

● PRINCIPLE OF BIOTECHNOLOGY:
(जैव-प्रौद्योगिकी के सिद्धान्त):-

→ आधुनिक जैव-प्रौद्योगिकी के विकास में मुख्य रूप से दो तकनीकों का योगदान है-

(1) Genetic engineering
(आनुवंशिक अभियांत्रिकी या इंजीनियरिंग):-

→ इस तकनीक के द्वारा किसी जीव की कोशिका से DNA या जीन को निकालकर उसे अन्य जीन के साथ युग्मित किया जाता है, जिसके परिणामस्वरूप जीवों के लक्षणों को इच्छानुसार उत्पन्न किया जाता है।

→ कोशिका के DNA या जीन की संरचना में इच्छानुसार परिवर्तन (manipulation) को सामान्यतः आनुवंशिक इंजीनियरिंग (genetic-engineering) कहते हैं।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ वह जीव जिसमें बाहरी जीन को प्रवेश कराया जाता है, उसे आनुवंशिक रूप से संशोधित जीव (GMO) कहते हैं, ऐसे जीवों को सामान्यतः ट्रांसजेनिक जीव (Transgenic animals) भी कहते हैं।

② Chemical Engineering
(रसायनिक इंजीनियरिंग)

→ जब रोगमुक्त वातावरण में पाये जाने वाले सुक्ष्मजीवों के गुणसूत्र (Chromosome) में पाये जाने वाले जीन में कुछ आनुवंशिक परिवर्तनों से महत्वपूर्ण एवं उपयोगी जैव-रसायनों (Bio-chemicals) को प्राप्त किया जाता है, तो उसे रसायनिक इंजीनियरिंग (Chemical engineering) कहते हैं।

→ सुक्ष्मजीवों में आनुवंशिक परिवर्तनों के फलस्वरूप अधिक मात्रा में जैव-प्रौद्योगिक उत्पाद जैसे- एण्टीबायोटिक, टीके, वैक्सीन, एन्जाइम इत्यादि उपयोगी पदार्थों को प्राप्त किया जाता है।

* DEVELOPMENT OF PRINCIPLES OF GENETIC ENGINEERING
(आनुवंशिक इंजीनियरिंग के सिद्धान्तों का विकास)

→ लैंगिक प्रजनन के फलस्वरूप एक ही जाति के जीवों के बीच विभिन्नताएँ उत्पन्न होती हैं, इसी विभिन्नता को दूर करने के लिए आनुवंशिक इंजीनियरिंग द्वारा जीन क्लोनिंग एवं जीन स्थानान्तरण का उपयोग कर रिकॉम्बीनेन्ट DNA (Recombinant DNA) का निर्माण किया जाता है।

→ एक गुणसूत्र में एक विशिष्ट DNA अनुक्रम होता है, जहाँ से इसकी प्रतिकृति (replication) प्रारंभ होती है, DNA के इस विशेष अनुक्रम को प्रतिकृति की उत्पत्ति (Origin of replication) कहते हैं।

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ Gene cloning (जीन क्लोनिंग) :-
– एक विजातीय DNA प्रतिकृति के मूल से जुड़ा रहता है ताकि DNA का विजातीय खण्ड परपोषी जीव में स्वतः प्रतिकृति एवं गुणित हो सके। इस प्रक्रिया को gene cloning (जीन क्लोनिंग) कहते हैं।

• PLASMID (प्लाज्मिड) :-
→ जीवाणुओं में एक अतिरिक्त गोलाकार गुणसूत्र उपस्थित होता है, जिसमें प्रतिकृति की उत्पत्ति मौजूद रहती है, उसे प्लाज्मिड (plasmid) कहते हैं।

→ सर्वप्रथम कोहेन (Kohen) एवं बॉयर (Boyr) नामक वैज्ञानिकों द्वारा रिकॉम्बीनेन्ट DNA का निर्माण सालमोनेला टाइफीम्यूरियम के प्लाज्मिड में प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन के कोड को जोड़ने से किया गया था।

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

→ Restriction enzyme (प्रतिबंधन एन्जाइम), सामान्यतः वह एंजाइम होता है जो DNA को किसी विशेष स्थान से काटने में उपयोग होता है।
→ Restriction enzyme को अर्थात प्रतिबंधन एंजाइम को molecular scissors आणविक कैंची भी कहा जाता है।

→ DNA ligase (DNA लाइगेज) एक ऐसा एंजाइम है जिसका उपयोग कटे हुए DNA को प्लाज्मिड DNA से जोड़ने के लिए किया जाता है।

→ एक विशिष्ट जीन की कई प्रतिलिपियों की निर्माण की क्रिया एण्टीबॉयोटिक प्रतिरोधक क्लोनिंग (cloning of antibiotic resistance) कहते हैं।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ इस प्रकार जीवों में Recombinant DNA या जीन क्लोनिंग (gene cloning) के दरम्यान मुख्य रूप से तीन चरण शामिल होते हैं

(1) Identification of DNA with desirable gene (वांछित जीन युक्त DNA खण्डों की पहचान)

(2) Introduction of the identified DNA into the host. (वांछित खण्डों का (संवाहक) में स्थानांतरण)

(3) Maintenance of introduced DNA in the host and transfer of the DNA to its progeny. (रिकॉम्बीनेन्ट DNA का परपोषी में प्रतिलिपिकरण एंव नयी संतति कोशिका में स्थानांतरण)

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

* Tools of Recombinant DNA technology (रिकॉम्बीनेन्ट DNA तकनीक के अंग)

→ रिकॉम्बीनेन्ट DNA या आनुवंशिक इंजीनियरिंग के दौरान कई प्रकार के साधनों की आवश्यकता होती है, जैसे- प्रतिबंधन एन्जाइम (restriction enzyme), पॉलीमिरेज एन्जाइम (polymerase enzyme), लाइगेज एन्जाइम (ligase enzyme) संवाहक (vector) एंव परपोषी (host) इत्यादि

(A) Restriction enzymes:- (प्रतिबन्धन एन्जाइम)

→ सन् 1963 में Arber (आरबर) नाम के वैज्ञानिक ने E.coli नामक जीवाणु से दो एन्जाइमों को खोजा, जिसे आगे चलकर प्रतिबन्धन एन्जाइम कहा गया।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ इन एन्जाइमों की उपस्थिती के कारण E. coli (ई. कोलाई) अपनी सुरक्षा जीवाणुभोजी (Bacteriophage) के संक्रमण (infection) से करती है।

→ इनमें एक एन्जाइम DNA के मिथाइलसमूह को जोड़ने का कार्य करता है जबकी दूसरा एन्जाइम DNA को विशेष क्षेत्र से काटने का कार्य करता है। जिसे प्रतिबंधन एण्डोन्यूक्लिएज (Restriction endonuclease) कहते हैं।

→ सबसे पहला प्रतिबंधन एण्डोन्यूक्लिएज (Restriction endonuclease) की खोज सन् 1968 में किया गया था जिसे हिंड-II (Hind-II) कहा गया।

→ हिंड-II (Hind-II) का सर्वप्रमुख कार्य DNA न्यूक्लियोटाइड्स के विशेष क्रम पर निर्भर करता है।

हिंड-II, DNA को उस विशेष बिन्दु पर काटता है जहाँ छः क्षार युग्मक (six-Base pair) का विशेष अनुक्रम (sequence) उपस्थित रहता है।

→ एंजाइमों के नामकरण नाम का प्रथम अक्षर वंश का तथा दूसरा एंव तिसरा अक्षर प्रोकैरियोटिक कोशिका की जाति से लिया जाता है। जिससे इसे पृथक किया जाता है।
(The convention for nameing these enzymes is the first letter of the name comes from the genes and the secound two letters comes from the species of prokaryotic cell from which they were isolated.)

→ Example:- (EcoRI)
यहाँ :- R = strain (प्रभेद)
I = (रोमन अंक) :- जिसमें इसे अलग किया गया है।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

* Some important restriction enzymes and their source:-
(कुछ प्रमुख प्रतिबंधन एंजाइम एवं उनके स्रोत)

→ Enzyme (एंजाइम)	→ Source (स्रोत)
(1) ECO RI	Esherichia coli (एशचिरिशिया कोलाई)
(2) ECO RV	Esherichia coli (एशचिरिशिया कोलाई)
(3) Alu I	Arthrobacter luteus (अर्थ्रोबैक्टर ल्यूटियस)
(4) Bam HI	Bacillus amyloliquefacie-nce (बैसीलस एमाइलोलिक्विफैसियन्स)
(5) Sal I	Streptomyces albus (स्ट्रेप्टोमाइसिस एल्बस)

ATM classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

→ प्रतिबंधन एंजाइम सामान्यतः एंजाइमों के एक बड़े वर्ग (class) के अंतर्गत आता है जिसे न्यूक्लिएज (Nuclease) कहा जाता है-

→ Nuclease (न्यूक्लिएज) एंजाइम सामान्यतः दो प्रकार के होते हैं-
(i) Exonuclease (एक्सोन्यूक्लिएज)
(ii) Endonuclease (इण्डोन्यूक्लिएज)

(i) Exonuclease (एक्सोन्यूक्लिएज) :- इस प्रकार के प्रतिबंधन एन्जाइम के द्वारा DNA के सिरे से न्यूक्लियोटाईड को काटकर हटाया जाता है-
(ii) Endonuclease (इण्डोन्यूक्लिएज) :- इस प्रकार के एंजाइम DNA को भीतरी विशिष्ट स्थलों पर काटती है-

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ इस प्रकार प्रतिबंधन इण्डोन्यूक्लिएज DNA अनुक्रम को पूरी लम्बाई में निरक्षण के बाद कार्य करता है, यह अपने अनुवाद विशिष्ट अनुक्रम (sequence) की पहचान करता है, जिसे प्रतिबंधन स्थल (restriction site) कहते हैं–

→ प्रतिबंधन स्थल की पहचान करने के बाद यह DNA से जुड़ता है तथा DNA के दोनों स्ट्रैण्ड के शर्करा फॉस्फेट आधार स्तम्भों (sugar-phosphate backbone) को विशिष्ट केन्द्रों पर काटता है।

→ प्रत्येक प्रतिबंधन इण्डोन्यूक्लिएज एन्जाइम में DNA के विशिष्ट पैलिण्ड्रोमिक न्यूक्लियोटाइड्स अनुक्रमों (palindromic nucleotide sequence) की पहचान करने की क्षमता होती है।

→ यहाँ यह जुड़ना क्रियाविधि के एक भाग के रूप में कार्य करता है जिसे सामान्यतः प्रतिबंधन रूपान्तरण तंत्र (Restriction modification System) कहते हैं।

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

* Restriction Endonuclease
(प्रतिबंधन इण्डोन्यूक्लिएज)

→ इण्डोन्यूक्लिएज एन्जाइम का एक ऐसा समूह जिनमें विशिष्ट न्यूक्लियोटाइड्स अनुक्रम होता है तथा DNA को विशिष्ट स्थानों पर काटते हैं उसे प्रतिबंधन इण्डोन्यूक्लिएज कहते हैं–

→ इसे दो वर्गों में बाँटा गया है–

(I) class-I (वर्ग-I)
(II) class-II (वर्ग-II)

(I) class-I (वर्ग-I) :- इस वर्ग के अंतर्गत आने वाले एन्जाइम DNA अनुक्रमों की पहचान करने में सक्षम होते हैं, परन्तु DNA को विशिष्ट स्थानों से नहीं काट पाते हैं।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

(11) Class-II (वर्ग - II) :- इस वर्ग में आने वाले इण्डोन्यूक्लिएज प्रतिबंधन एन्जाइम DNA न्यूक्लियोटाइड के अनुक्रमों की पहचान कर उसे विशिष्ट स्थान से काटने में सक्षम होते हैं।
→ इन्हें DNA के विदलन के लिए Mg++ आयन की आवश्यकता होती है।

→ प्रत्येक प्रतिबंधन इण्डोन्यूक्लिएज टाइप-II का पहचान क्रम पैलीण्ड्रोमिक अनुक्रम वाला होता है।
→ पैलीण्ड्रोमिक (palindromic) वर्णों का वह समूह है जिसे आगे या पीछे दोनों तरफ से पढ़े जाने पर एक ही शब्द मिलते हैं।
Example:-
MALAYALAM, ATMTA etc.
→ DNA पैलीण्ड्रोम क्षारक युग्मों का ऐसा अनुक्रम (sequence) है, जिसे समान अभिविन्यास (orientation) से पढ़े जाने पर DNA के दोनों स्ट्रैण्ड्स में एक जैसा पढ़ा जाता है।
→ Examples- निम्न अनुक्रमों को 5' → 3' दिशा में पढ़े जाने पर इसे दोनों स्ट्रैण्ड्स में एक जैसा पढ़ा जाएगा।

5' → G A A T T C 3'
3' → C T T A A G 5'

→ यह एन्जाइम DNA को एक विशेष स्थल (specific site) पर काटता है जैसे :- EcoRI क्लोनिंग न्यूक्लियोटाइड्स के पैलीण्ड्रोमिक अनुक्रम (sequence) GAATTC की पहचान कर G एवं A के मध्य दोनों स्ट्रैण्ड्स पर काटता है।

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ प्रतिबंधन इण्डोन्यूक्लिएज का सर्वाधिक उपयोग आनुवंशिक इंजीनियरिंग में DNA के रिकॉम्बीनेन्ट अणुओं को तैयार करने में किया जाता है, जो विभिन्न जीनोम या स्रोतों से प्राप्त DNA खण्ड से मिलकर बनता है।

* SEPARATION AND ISOLATION OF DNA FRAGMENTS:-
(DNA खण्ड का पृथक्करण एवं विलगन)

→ प्रतिबंधन इण्डोन्यूक्लिएज एन्जाइम DNA को विशेष स्थान पर काटकर उन्हें खण्डों में विभक्त कर देता है। इन खण्डों को अलग करने वाले तकनीक को सामान्यतः Gel electrophoresis (विद्युत का संचालन) कहते हैं।

→ DNA खण्ड ऋणात्मक आवेश (Negative charged) में आवेशित अणु (molecule) है, इसलिए इसे विद्युतीय क्षेत्र में जेल माध्यम का प्रयोग कर बलपूर्वक धनात्मक आवेश से आवेशित एनोड (Anode) की ओर भेजकर अलग कर लिया जाता है।

→ इलेक्ट्रोफोरेसिस में माध्यम के रूप में पॉलीएक्राइलेमाइड (polyacrylamide) अथवा ऐगारोज (Agarose) का उपयोग किया जाता है।

→ ऐगारोज (Agarose) अगर-अगर (Agar-Agar) से प्राप्त किया गया विशुद्ध पाउडर है, जिसे ग्रेसीलेरिया एवं जिलेडियम नामक समुद्री लाल शैवाल से प्राप्त किया जाता है।

→ DNA खण्डों को ऐगारोज (Agarose) जेल में देखने के लिए एक विशेष उपकरण की आवश्यकता होती है, जिसे जेल डॉक्यूमेंटेशन सिस्टम (gel documentation system) कहा जाता है।

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ अलग किये गये DNA खण्डो को तभी देख सकते हैं, जब इसे इथीडियम ब्रोमाइड नामक यौगिक (compound) से अभिरंजित कर दिया जाता है।

→ जेल (gel) के टुकड़े को क्षालन (elution) प्रक्रिया के द्वारा DNA खण्ड से अलग कर दिया जाता है।
इस प्रकार से प्राप्त शुद्ध DNA खण्ड को क्लोनिंग संवाहक से जोड़कर रिकॉम्बीनेन्ट DNA (Recombinant DNA) का निर्माण कियाजाता है।

* CLONING VECTOR (क्लोनिंग संवाहक):-

→ क्लोनिंग संवाहक (cloning vector) सामान्यतः वह एजेंट होता है जिसके माध्यम से DNA को स्थानांतरित किया जाता है।
Example:- प्लाज्मिड एवं बैक्टीरियोफेज (plasmid & Bacteriophage)

→ plasmid (प्लाज्मिड) बैक्टीरिया (Bacteria) में पाये जाने वाला एक छोटा वलयकार एक्स्ट्राक्रोमोसोमल DNA है, जो बिना गुणसूत्रीय नियंत्रण के स्वतंत्र रूप से अपनी प्रतिकृति तैयार करने की क्षमता रखता है।

→ Bacteriophage (बैक्टीरियोफेज) या जीवाणुभोजी जीवाणु (Bacteria) की कोशिका को संक्रमित करके DNA अणुओं को स्वतंत्र रूप से गुणन करने में सक्षम होता है।

→ Ti-plasmid (Ti-प्लाज्मिड) एक प्राकृतिक संवाहक है, जिसका उपयोग जीन क्लोनिंग में किया जाता है। यह एक जीवाणु एग्रोबैक्टीरियम (Agrobacterium) ट्यूमीफेसिएंस द्वारा पौधों के जड़ों में बनाये गये ट्यूमर कोशिका (Tumor cell) में होता है।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ Ti-प्लाज्मिड (Ti-plasmid) आनुवंशिक सूचनाओं (genetic information) को स्थानांतरित करके स्थायित्व प्रदान करने तथा अभिव्यक्ति की क्षमता (capacity) होती है।

→ pBR322 एवं pUC-10 दोनों कृत्रिम प्लाज्मिड (Artificial plasmid) हैं, जिन्हें एशाचिरिशिया कोलाई के प्राकृतिक प्लाज्मिड (Natural plasmid) के विभिन्न भागों से प्राप्त किया जाता है।

◦ The following are the features that are required to facilitate cloning into a vector:-
संवाहक में क्लोनिंग की क्षमता होने के लिए निम्नलिखित विशेषताओं का होना आवश्यक है:-

(i) Origin of replication (ori):-
(प्रतिकृतियन की उत्पत्ति)
→ यह DNA में पाये जाने वाला वह अनुक्रम (sequence) का वह भाग होता है, जहाँ से replication (द्विगुणन) की प्रक्रिया आरंभ होती है,
→ यदि किसी लक्ष्य DNA को अधिक संख्या में प्राप्त करना हो, तो इसे ऐसे संवाहक में क्लोन करना आवश्यक है, जिसका मूल (ori) अत्यधिक प्रतियों को तैयार करने में सक्षम हो।

(ii) Selectable marker (चुनने योग्य निशान):-
→ ori (मूल) के साथ-साथ संवाहक को चुनने योग्य निशान की आवश्यकता होती है,
→ यह अरूपांतरणों (Non-transformants) की पहचान कर उन्हें समाप्त करने में सहायक होता है तथा रूपांतरणों (transformants) का चयन करता है।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ Transformants (रूपांतरण) :- वैसी प्रक्रिया (process) जिसके द्वारा DNA खण्ड (fragment) को परपोषी जीवाणु (Bacteria) में प्रवेश कराया जाता है, उसे transformants (रूपांतरण) कहते है।

(iii) Cloning sites (क्लोनिंग स्थल) :-

→ बाहरी DNA को संवाहक DNA से जोड़ने के लिए प्रतिबन्धन एन्जाइम (Enzyme) को प्रयोग में लाया जाता है।

→ प्रतिबंधन एंजाइम (Restriction enzyme) को संवाहक में एक से अधिक पहचान स्थल (sites) होना चाहिए।

→ संवाहक से जुड़ने के लिए एक या एक से अधिक पहचान स्थल होने से इसके अनेक खण्ड बन जाते हैं, जिससे जीन क्लोनिंग की प्रक्रिया जटिल (complicated) हो जाती है।

→ प्रतिबंधन एंजाइम (restriction enzymes) जैसे :- ECO RI, BamHI, SalI, PvuII, ClaI, Hind III के लिए मुख्य रूप से cloning site (क्लोनिंग स्थल) उपस्थित होते हैं।

→ एक प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन रूपांतरणों (transformants) के चुनाव में मदद करता है जबकी दूसरा प्रतिजैविक प्रतिरोधी जीन विजातीय DNA के निवेशन (insertion) से निष्क्रिय (inactive) हो जाता है।

→ रिकॉम्बीनेन्ट को नॉन-रिकॉम्बीनेन्ट से इस आधार पर अलग किया जाता है, क्योंकी ये क्रोमोजेनिक (chromogenic) पदार्थ की उपस्थिती में रंग पैदा करने में सक्षम होते हैं, इनमें से एक रिकॉम्बीनेन्ट DNA का समावेश एन्जाइम B-गेलेक्टोसाइडेज के कोडिंग अनुक्रम में कर दिया जाता है, जिससे यह एंजाइम निष्क्रीय हो जाता है, जिसे निवेशी निष्क्रियता (insertional inactivation) कहते हैं।

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

(iv) Cloning vector for plants and Animals (पौधों एवं जंतुओं में प्राकृतिक रूप से उनके लिए क्लोनिंग संवाहक):-

→ पौधों एवं जन्तुओं में प्राकृतिक रूप से जीन स्थानान्तरण जीवाणुओं (Bacteria) एवं विषाणुओं (virus) द्वारा होता है।

→ यह पोषक कोशिकाओं को अपनी इच्छानुसार कार्य करने के लिए रूपान्तरित कर देता है।

→ एग्रोबैक्टीरियम ट्यूमीफेशियेंस (Agrobacterium tumifaciens) अनेक द्विबीजपत्री पौधों में रोग उत्पन्न करने वाला पैथोजेन है। यह पौधों की जड़ों की सामान्य कोशिकाओं को ट्यूमर (tumor) कोशिका में बदल देता है।

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

→ Tumor (ट्यूमर) बनाने की क्षमता बैक्टीरियम में पाये जाने वाला Ti-plasmid के कारण होती है।

→ Ti-plasmid में T-DNA पाया जाता है, यह DNA रूपान्तरित कोशिकाओं में हॉर्मोनल अस्थिरता उत्पन्न करता है, जिससे ट्यूमर कोशिकाएँ अत्यधिक मात्रा में कुछ विशेष प्रकार के रसायनों का निर्माण करती है जिसे ओपाइन्स (opines) कहते हैं।

→ आधुनिक युग में एग्रोबैक्टीरियम को संवाहक के रूप में उपयोग करके कीटरोधी एवं हार्बीसाइडरोधी जीन स्थानान्तरण द्वारा आर्थिक महत्व के पौधों उगाए जाते हैं।

Examples:- तम्बाकू, आलू, सूर्यमुखी आदि इत्यादि—

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

- COMPETENT HOST FOR TRANSFORMATION WITH RECOMBINANT DNA –
(रिकॉम्बीनेन्ट DNA के साथ ट्रांसफॉर्मेशन के लिए सक्षम परपोषी):-

→ परपोषी कोशिकाओं में विजातीय DNA को प्रवेश कराने के लिए मुख्य रूप से माइक्रो-इंजेक्शन (micro-injection) का प्रयोग किया जाता है।
इस विधि में रिकॉम्बीनेन्ट DNA को सीधे जंतु कोशिका के केन्द्रक में अंतः क्षेपित (inject) किया जाता है।

→ पौधों की कोशिकाओं में विजातीय DNA को प्रवेश कराने के लिए बायोलिस्टिक (biolistic) या जीन गन (gene gun) विधि का उपयोग किया जाता है।

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

→ इस विधि में कोशिकाओं पर DNA से विलेपित (coated), स्वर्ण या टंगस्टन के सूक्ष्म कणों से बमबारी करते हैं। इस विधि में अहानिकारक (disarmed) रोगजनक संवाहक (vector) का उपयोग किया जाता है।
इन vector (संवाहकों) द्वारा जब कोशिकाओं को संक्रमित करने दिया जाता है, तो ये रिकॉम्बीनेन्ट DNA को परपोषी में स्थानान्तरित कर देता है।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

process of Recombinant DNA technology-
(रिकॉम्बीनेन्ट DNA प्रौद्योगिकी के प्रक्रम)

→ रिकॉम्बीनेन्ट DNA तकनीकी या आनुवंशिक अभियांत्रिकी तकनीकी एक से अधिक जटील (complex) प्रक्रिया है।
→ रिकॉम्बीनेन्ट DNA तकनीकी या टेक्नोलॉजी में निम्नलिखित चरणबद्ध अनुक्रम (step) होते हैं—

① Isolation of genetic material (DNA)
(DNA का पृथक्करण)

② Cutting of DNA at specific locations
(DNA का प्रतिबंधन एन्जाइम के द्वारा खण्डन)

③ Amplification of Gene of Interest using polymerase chain reaction (PCR)
(पॉलीमिरेज श्रृंखला अभिक्रिया)

④ Insertion of Recombinant DNA into Host cell or Organism.
(रिकॉम्बीनेन्ट DNA का परपोषी कोशिका या जीव में निवेशन)

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

⑤ Obtaining the foreign gene product
(बाहरी जीन उत्पाद को प्राप्त करना)

① Isolation of genetic material (DNA)
(DNA का पृथक्करण)

→ DNA को कोशिका में उपस्थित अन्य अणुओं से अलग करने के लिए विशेष प्रकार के एन्जाइमों का उपयोग किया जाता है।
→ जीवाणु (Bacteria) कोशिका को लाइसोजाइम (lysozyme), पौधों (plant) की कोशिका को सेल्यूलोज (cellulose) एन्जाइम तथा कवक की कोशिका को (chitinase) काइटिनेज एन्जाइम के द्वारा अलग किया जाता है।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ कोशिका से RNA को राइबोन्यूक्लिएज (ribonuclease) एंजाइम द्वारा उपचारित करके अलग किया जाता है। जबकी protein को protease एन्जाइम के द्वारा अलग किया जाता है।

② Cutting of DNA at specific sites:- (DNA को विशिष्ट स्थलों पर काटना)

→ अवक्षेपण से प्राप्त किये गये शोधित DNA अणुओं को प्रतिबंधन एंजाइम (restriction enzyme) की सहायता से विशिष्ट स्थानों से काटा जाता है।

→ एन्जाइम की कार्य की प्रगति देखने के लिए एगारोज जेल विद्युत कण (Agarose gel electrophoresis) या इलेक्ट्रोफोरेसिस विधि का इस्तेमाल किया जाता है।

→ DNA ऋणात्मक आवेश (-) से आवेशित अणु है यही कारण है कि यह जेल में उपस्थित छिद्रों द्वारा धन आवेश वाले इलेक्ट्रोड, एनोड की ओर गति करता है।

③ Amplification of gene of interest using polymerase chain reaction (PCR) - (पॉलीमरेज श्रृंखला अभिक्रिया) :-

→ पॉलीमरेज श्रृंखला अभिक्रिया को सामान्यतः PCR विधि के नाम से भी जाना जाता है।

→ PCR के लिए मुख्य रूप से थर्मल साइक्लर (thermal cycler) नामक Instrument उपकरण का उपयोग किया जाता है।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ PCR मुख्य रूप से तीन चरणों में सम्पन्न होती है।

(A) Denaturation (विकृतिकरण) = 92°C
(B) Annealing (तापानुशीतन) = 48°C
(C) Extension (विस्तारण) = 72°C

→ इन तीनों चरणों को कई बार दुहराने से DNA खण्ड कई गुना तक प्रावर्धित (Amplified) हो जाते हैं। इस विधि से लगभग DNA के 1 अरब copy तैयार किया जा सकता है।

→ पॉलीमरेज श्रृंखला अभिक्रिया में DNA के अतिरिक्त उपक्रमों (primers) की आवश्यकता होती है। थर्मोस्टेबल एन्जाइम टैक DNA पॉलीमरेज, $MgCl_2$ एवं डाइमेथाइल सल्फॉक्साइड

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

(4) Insertion of Recombinent DNA into Host cell or Organism —
(रिकॉम्बीनेन्ट DNA का परपोषी कोशिका या जीव में निवेशन —)

→ प्रतिरोधी जीन की उपस्थिती के कारण एंपिसिलिन की उपस्थिति में कोई भी रूपांतरित कोशिका का चयन किया जा सकता है। इस स्थिती में प्रतिरोधी जीन को चुनाव योग्य चिह्नक (selectable marker) कहते हैं।

(5) Obtaining the foreign gene product
(बाहरी जीन उत्पाद को प्राप्त करना)

→ रिकॉम्बीनेन्ट जैव तकनीक का मुख्य उद्देश्य मनुष्यों के लिए उपयोगी एवं ऐच्छिक जैव-रसायनों एवं प्रोटीन उत्पन्न करना है।

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

→ वैसा प्रोटीन जिसे विषमजात आतिथेय कोशिकाओं के अंदर रिकॉम्बीनेन्ट तकनीक (recombinant technology) के द्वारा उत्पन्न किया जाता हो, वैसे उत्पाद को रिकॉम्बीनेन्ट प्रोटीन (recombinant protein) या जैव-संश्लेषण कहते हैं

→ वांछित उत्पाद को प्राप्त करने के लिए बायोरिएक्टर अनुकूलतम परिस्थितियों को उपलब्ध करवाता है

→ Bioreactors (बायोरिएक्टर) में सामान्यतः निम्न परिस्थितियाँ उपलब्ध करवाया जाता है

- → तापमान (temperature)
- → pH
- → substrate
- → salts (नमक)
- → vitamins
- → oxygen

ATM Classes Baheri
an Institute of Intermediate Science

• Downstream processing (अनुप्रवाह संसाधन या प्रक्रिया) :-

→ आनुवंशिक प्रौद्योगिकी द्वारा रूपान्तरित कोशिकाओं से प्राप्त उत्पादों की पुनः प्राप्ति, उनका शुद्धिकरण एवं संरक्षण की प्रक्रिया को अनुप्रवाह संसाधन कहते हैं

→ अनुप्रवाह संसाधन (downstream processing) में अनेक विधि होती हैं जिनमें दो प्रमुख हैं

1. separation (पृथक्करण)
2. purification (शोधन)

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.

Application of recombinant technology
(रीकॉम्बीनेन्ट तकनीक के अनुप्रयोग)

→ रीकॉम्बीनेन्ट DNA तकनीक का सामान्यतः निम्नलिखित प्रयोग किये जाते हैं

(A) study of molecular events (आणविक घटनाओं का अध्ययन)
(B) Developmental stage (विकासीय अवस्थाएँ)
(C) Nitrogen fixation (नाइट्रोजन स्थिरीकरण)
(d) Gene map (जीन मैप)
(e) Food with extra biochemical
अतिरिक्त जैव-रसायनों से युक्त भोजन
(F) Diagnosis of diseases (रोगों के जाँच के लिए)
(g) Recombinant product (रिकॉम्बीनेन्ट उत्पाद)
(h) Gene-therapy (जीन चिकित्सा)
(i) Genetic-disorders (आनुवंशिक रोग)

ATM Classes Baheri
An Institute of Intermediate Science

@All right reserved. No part of this work may be reproduce in any form, without permission in writing from the copyright holder.