11

બાયોટેક્નોલૉજી (જૈવતક્નિકી) : સિદ્ધાંતો અને પ્રક્રિયાઓ

બાયોટેક્નોલૉજીને સૂક્ષ્મ જીવાણુઓ, પ્રાણી કે વનસ્પતિકોષોનો ઉપયોગ અથવા તેઓના ઘટકોથી બનતી નીપજો (પેદાશો) અને માનવજાત માટે ઉપયોગિતા તરીકે વ્યાખ્યાયિત કરી શકાય. ખોરાક માટે પ્રાણીઓનો શિકાર કે વનસ્પતિઓને ઉછેર કરવાનો બાયોટેક્નોલૉજીનો અર્થ કે ઉદ્દેશ નથી. છતાં ઘેટા અને ઢોર જેવાં પ્રાણીઓનો પશુધન તરીકે ઉપયોગ કરવા પાલતુ બનાવવા એ બાયોટેક્નોલૉજીનાં ઉત્તમ ઉદાહરણ છે. આપણા પૂર્વજો (વડવાઓ)એ પણ સૂક્ષ્મ જીવાણુઓનો ફાયદો (લાભ) લીધો અને પાઉ, પનીર, છાશ અને બીયર તથા દારૂ જેવાં પીણાં બનાવવા આથવણનો ઉપયોગ કર્યો હતો. આથવણ ક્રિયા દરમિયાન યીસ્ટની કેટલીક જાતો શર્કરાનું વિઘટન કરી શક્તિ છૂટી પાડે છે અને આ પ્રક્રિયામાં તેઓ નકામી નીપજ તરીકે ઇથેનોલ ઉત્પન્ન કરે છે. જ્યારે પાઉ (બ્રેડ) બનાવીએ કે રાંધીએ ત્યારે યીસ્ટ દ્વારા ઉત્પાદિત આલ્કોહૉલ (મદ્યાર્ક) વરાળ સ્વરૂપે હવામાં ઊડી જાય છે, પરંતુ બાકી રહી જતા આલ્કોહૉલના અવશેષથી મોટા ભાગના પાઉનો સ્વાદ થોડોઘણો મીઠો (ગળ્યો) લાગે છે.

આધુનિક બાયોટેક્નોલૉજી ઘણીવાર, ઇન્સ્યુલીન કે પ્રતિજૈવિક દ્રવ્યોના ઉત્પાદન માટે ઇ-કોલાઇ કે યીસ્ટ જેવા જનીન ફેરફારિત સૂક્ષ્મ જીવાણુઓના ઉપયોગ સાથે સંકળાયેલી છે. તેને પારજનીનિક પ્રાણીઓ કે બી.ટી.કપાસ જેવી વનસ્પતિઓ તરીકે ઉલ્લેખી શકાય. બાયોટેક્નોલૉજી એ ડાયાબિટીસ, હિપેટાઇટીસ-બી, હિપેટાઇટીસ-સી, કેન્સર, સંધિવા, હિમોફિલિયા, અસ્થિભંગ વગેરેની સારવાર માટેની ઔષધ-ચિકિત્સા સાથે પણ સંકળાયેલી છે.

બાયોટેક્નોલૉજીના યુરોપિયન સંગઠન (European Federation of Biotechnology-EFB) પ્રમાણે 'નીપજો અને તેમની ઉપયોગિતા માટે સજીવો, કોષો તેમના ભાગો તથા આણ્વિય અનુરૂપતા સાથે પ્રાકૃતિક વિજ્ઞાનનું સંકલન'ની રીતે બાયોટેક્નોલૉજીને વ્યાખ્યાયિત કરી શકાય.

બાયોટેક્નોલૉજીના સિદ્ધાંતો (Principles of Biotechnology)

નીચેની બે મુખ્ય પદ્ધતિઓએ આધુનિક બાયોટેક્નોલૉજીને જન્મ આપ્યો :

(1) જનીન ઇજનેરીવિદ્યા (Genetic Engineering) : સજીવોના ન્યુક્લિક ઍસિડ (DNA and RNA)ના વર્ધન કે ગુણનના અભ્યાસ અંગેનું વિશાળ ક્ષેત્ર છે. સજીવો કે જેમના જનીનોને ઇચ્છિત અસરકારકતા માટે કૃત્રિમ રીતે ફેરફારિત કરવામાં આવ્યા છે, તેમને ઘણીવાર જનીનિક પરિવર્તિત સજીવો (Genetically Modified Organism - GMO) પણ કહેવામાં આવે છે.

(2) વંધ્ય પરિસ્થિતિની જાળવણી : રસાયણ-ઇજનેરી (Chemical Engineering) : પ્રક્રિયાઓમાં વંધ્ય પરિસ્થિતિની જાળવણી (વ્યવસ્થાપન)ને લીધે પ્રતિજૈવિક દ્રવ્યો, ઉત્સેચકો, અંતઃસ્રાવો, રસી વગેરે જેવી બાયોટેક્નોલૉજીય નીપજો (પેદાશો)ના ઉત્પાદન માટે ફક્ત ઇચ્છિત લક્ષણો ધરાવતા સૂક્ષ્મ જીવાણુઓ કે વધુ માત્રામાં સુકોષકેન્દ્રિત કોષોનો ઉછેર કરવામાં આવે છે.

જ્યારે અલિંગી પ્રજનન દ્વારા આબેહૂબ જનીનિક માહિતીની સાચવણી કરવામાં આવે છે. લિંગીપ્રજનન વિવિધતા (ભિન્નતા) અને જનીનિક સમૂહોના નવાં જોડકાં (સંરૂપો)નાં નિર્માણ, તેમાંના કેટલાંક જોડકાં (સંરૂપો) સજીવો તેમજ વસ્તીને લાભકારી થઈ શકે, તે માટેની તક પૂરી પાડે છે.

હજારો વર્ષોથી માનવી પાકો અને પશુધનના ઉત્પાદનની સુધારણા તથા ખોરાક તરીકે તેમના ઉપયોગ માટે ઇચ્છિત (પસંદગીમાન) સંવર્ધન યોજતો આવ્યો છે. પસંદગીમાન સંવર્ધનમાં; ઇચ્છિત લાક્ષણિકતાઓ ધરાવતા સજીવો વચ્ચેના સંકરણથી તેના જેવી જ લાક્ષણિકતાઓ ધરાવતી સંતતિ ઉત્પન્ન કરવામાં આવે છે. જોકે આ વંશપરંપરાગત સંકરણમાં ક્યારેક ઇચ્છિત જનીનો સાથે અનૈચ્છિક જનીનોનું પણ બહુગુણન થાય છે. જનીન ઇજનેરીવિદ્યાની પદ્ધતિ, આ મર્યાદાઓ દૂર કરે છે અને લક્ષ સજીવમાંથી ઓળખ વગરના અનૈચ્છિક લક્ષણો યુક્ત જનીનોથી માત્ર એક કે સામૂહિક ઇચ્છિત લક્ષણો ધરાવતાં જનીનોની અલગતા અને ઓળખ કરી આપે છે.

જનીન ઇજનેરીવિદ્યાની પદ્ધતિમાં, સજીવોના અનુકૂળ કોષમાંથી ઇચ્છિત ડી.એન.એ. (DNA)ના ટુકડાને અલગ કરી અને તેને ગ્રાહીકોષમાં સ્થાપિત કે તબદીલ કરવામાં આવે છે. આ DNAનો ટુકડો જ્યાં સુધી ગ્રાહીકોષના જીનોમ (જનીનદ્રવ્ય)માં સંકલિત થઈ શકતો નથી કે ભળી જતો નથી, ત્યાં સુધી તે બહુગુણિત થવા સક્ષમ નથી. આમ થવાનું કારણ ગ્રાહીકોષનાં DNA ચોક્કસ શૃંખલા ધરાવે છે, જેને સ્વયંજનનની ઉત્પત્તિ કહે છે કે જે DNAના સ્વયંજનનની શરૂઆત કરે છે. આથી ગ્રાહીકોષમાં આવો સંકલિત DNA ટુકડો આપમેળે સ્વયંજનિત કે બહુગુણિત થાય છે, આને બીજા શબ્દોમાં ક્લોનિંગ (પ્રતિકૃતિ કે આબેહૂબ નકલ કરવી) કહી શકાય છે.

પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીના પાયાના સિદ્ધાંતો ખૂબ જ સરળ છે અને મુખ્યત્વે નીચેના તબક્કાઓમાં સમાવિષ્ટ છે :

(1) DNAના ટુકડાઓનું નિર્માણ અને DNAના ઇચ્છિત લક્ષણો ધરાવતા ટુકડાની પસંદગી.

(2) પસંદ કરેલ DNAના ટુકડાનું ક્લોનિંગ વાહક (પ્રતિકૃતિ કે આબેહૂબ નકલ ધરાવતા વાહક)માં ઊતરણ (દા.ત. પ્લાસ્મીડ) દ્વારા પુનઃસંયોજિત DNAનું સર્જન.

(3) પુનઃસંયોજિત વાહકોની યજમાન (પોષિતા) કોષોમાં ઓળખ. (દા.ત. બૅક્ટેરિયા).

(4) પુનઃસંયોજિત અણુઓ ધરાવતા ક્લોન્સ (પ્રતિકૃતિઓ)નું બહુગુણન અને પસંદગી.

(5) જનીનની અભિવ્યક્તિ દ્વારા ઇચ્છિત નીપજની બનાવટ કે ઉત્પત્તિ.

પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીનાં ઉપકરણો (Tools of recombinant DNA Technology)

પુનઃસંયોજિત DNAના ઉત્પાદન માટે નીચેનાં ઉપકરણો જરૂરી છે :

(1) પ્રતિબંધક ઉત્સેચકો (Restriction Enzymes) (2) પ્રતિકૃતિ બનાવતા વાહકો (Cloning Vectors) અને (3) હરીફ યજમાન (Competent Host)

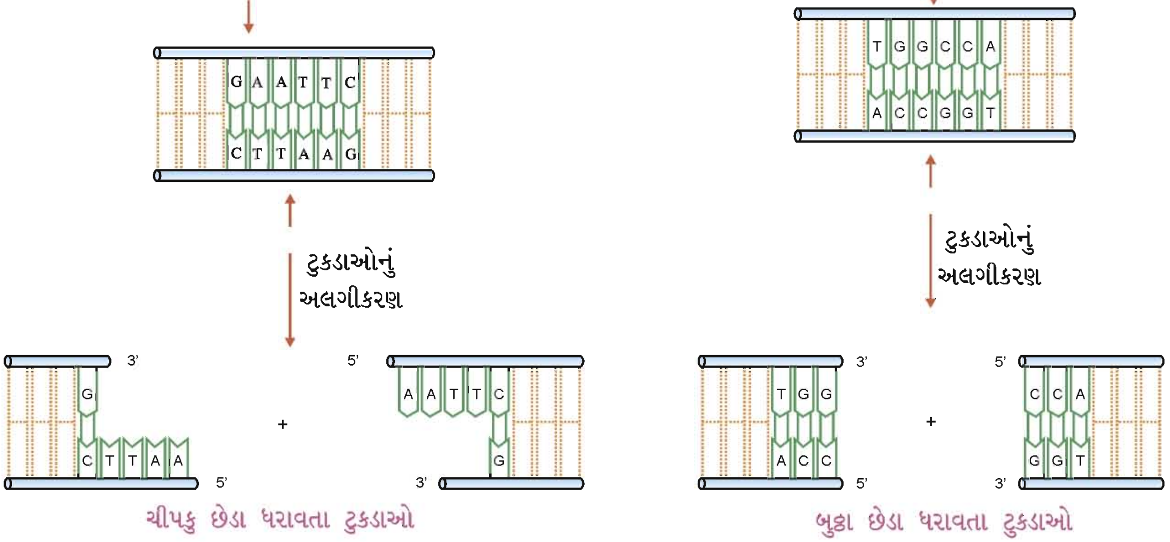
(1) રીસ્ટ્રીક્શન ઉત્સેચકો (Restriction enzymes) : પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીની પદ્ધતિમાં લક્ષણો ધરાવતા DNA ના ટુકડાને કાપી અને તેને વાહકમાં (દા.ત. પ્લાસ્મીડ) ઓળખ અપાય છે. આ ટેક્નોલૉજીની પદ્ધતિ એ ચોક્કસ બૅક્ટેરિયલ ઉત્સેચકો જેવા કે રીસ્ટ્રીક્શન ઉત્સેચકો (Restriction Enzymes) કે રીસ્ટ્રીક્શન એન્ડોન્યુક્લીએઝ ઉત્સેચકો (Restriction Endonucleases Enzymes)નો ઉપયોગ કરી પ્રાપ્ત કરાય છે. આવા ઉત્સેચકો દ્વિસૂત્રીય DNAની નાની કે ટૂંકી શૃંખલાઓને ઓળખી વિખંડિત કરવા કે તોડવા માટે લક્ષ બનાવે છે. આવા ઉત્સેચકો DNAના અણુને ચોક્કસ જગાએથી એ જ રીતે 4-8 બેઇઝ જોડીઓ ધરાવતી ચોક્કસ શૃંખલા પરથી તોડે છે. આવા વિવિધ ઉત્સેચકો, વિવિધ પરંતુ 4 થી 8 બેઇઝ જોડીઓના ચોક્કસ ક્રમને ઓળખે છે. આ ચોક્કસ નાઇટ્રોજન બેઇઝ જોડીઓ ધરાવતી શૃંખલા ઓળખશૃંખલા તરીકે પણ જાણીતી છે.

આજે આપણે 900થી પણ વધારે પ્રતિબંધક ઉત્સેચકો જાણીએ છીએ કે જે બૅક્ટેરિયાની 230થી પણ વધુ જાતિઓમાંથી અલગ કરવામાં આવ્યા છે. આવા ઉત્સેચકોનું નામકરણ તેઓ જે બૅક્ટેરિયામાંથી મેળવાયા છે, તેને આધારે ત્રણ કે ચાર ટૂંકા અક્ષરો દ્વારા કરવામાં આવે છે. દા.ત., Eco RI એ ઇશ્ચેરેશિયા કોલાઇ (Escherichia coli)માંથી મેળવવામાં આવે છે. 'R' એ જાતિના નામમાંથી જ્યારે રોમન અંક એ બૅક્ટેરિયાની કઈ જાતિમાંથી કયો ઉત્સેચક અલગ કરવામાં આવ્યો છે, તેના નામના સૂચનને અનુસરે છે.

રિસ્ટ્રિક્શન ઉત્સેચકો એ ઉત્સેચકોના મોટા વર્ગમાં સમાવિષ્ટ છે, જેને ન્યુક્લીએઝ-ઉત્સેચકો (Nucleases) કહેવાય છે. ન્યુક્લીએઝ-ઉત્સેચકો બે પ્રકારના છે. (1) એક્સોન્યુક્લીએઝ-ઉત્સેચકો (Exonucleases) અને (2) એન્ડોન્યુક્લીએઝ-ઉત્સેચકો (Endonucleases). એક્ઝોન્યુક્લીએઝ-ઉત્સેચકો (Exonucleases) એ DNAના અંત છેડા પરથી ન્યુક્લિઓટાઇડને દૂર કરે છે, જ્યારે એન્ડોન્યુક્લીએઝ-ઉત્સેચકો (Endonucleases) એ DNA પર ચોક્કસ જગાએ કાપ મૂકે છે.

એન્ડોન્યુક્લીએઝ-ઉત્સેચકો (Endonucieases) એ ટૂંકી પેલિન્ડ્રોમીક શૃંખલાઓ (પરસ્પર વિરૂદ્ધ દિશામાં સરખી શૃંખલાઓ)ને ઓળખી અને ચોક્કસ જગાઓથી તોડે છે. પેલિન્ડ્રોમીક ક્રમ બેવડા કુંતલ ધરાવતા DNAમાં બેઇઝની જોડનો ક્રમ છે. જે DNAની એક બાજુએથી બીજી બાજુ તરફ આગળ અને પાછળથી એક સરખા વાંચી શકાય છે. જ્યારે રિસ્ટ્રિક્શન એન્ડોન્યુક્લીએઝ ઉત્સેચક પેલિન્ડ્રોમ પર કાર્ય કરે ત્યારે તે DNA અણુની બંને શૃંખલાઓને તોડે છે. કેટલાક ઉત્સેચકો બે તતુંઓને સમમિતીય (સરખી) રીતે કાપે છે અને બુઠ્ઠા છેડા (Blunt End) બનાવે છે, જ્યારે બીજા ઉત્સેચકો બે તતુંઓને અસમમિતીય (વિષમ) રીતે કાપે છે અને ચીપકુ છેડા (Sticky End) બનાવે છે.

ફક્ત એ ઉત્સેચકો કે જે DNAને કાપી અને ચીપકુ છેડા બનાવે છે, તેઓ જ પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીમાં ઉપયોગી છે. જ્યારે વાહક (પ્લાસ્મિડ) અને ઇચ્છિત DNA બંને એકજ ઉત્સેચક દ્વારા કપાય તેના પરિણામ સ્વરૂપે DNAના ટુકડાઓ એકસરખા પ્રકારના બંધબેસતા આવા ચીપકુ છેડાઓ ધરાવે છે અને આવા કપાયેલા DNAના ટુકડાઓને DNA - લાઇગેઝ ઉત્સેચકના ઉપયોગ વડે જોડી શકીએ છીએ.



રિસ્ટ્રિક્શન ઉત્સેચક દ્વારા બનતા બે પ્રકારના ટુકડાઓ

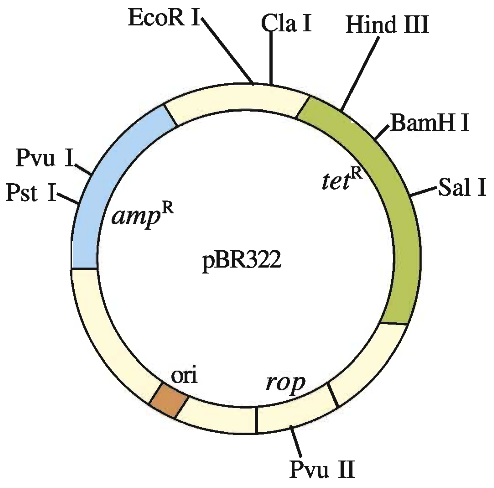
(2) પ્રતિકૃતિ બનાવતા વાહકો (Cloning Vectors) : વાહક DNA અણુઓ છે, જે વિદેશી (બહારના) DNA ટુકડાને પ્રતિકૃતિઓ બનાવવા માટે પ્રસ્થાપિત કરે છે. પ્લાસ્મિડ અને બૅક્ટેરિયોફેઝ ખૂબજ અગત્યના વાહકો છે, જે રંગસૂત્રીય DNAના નિયંત્રણથી સ્વતંત્ર રીતે (સ્વયંનિયંત્રણ રીતે) બૅક્ટેરિયાના કોષોમાં સ્વયંજનન કરે છે. બૅક્ટેરિયોફેઝ તેની પ્રત્યેક કોષ દીઠ વધુ સંખ્યાના કારણે બૅક્ટેરિયલ કોષોમાં તેમના જીનોમની વધુ સંખ્યામાં નકલો ધરાવે છે. એ જ રીતે બધા જ બૅક્ટેરિયલ કોષો પ્લાસ્મિડ (વધારાનું DNA) ધરાવતા હોવાથી પ્રત્યેક કોષ દીઠ ઓછામાં ઓછી 1-4 નકલો કે પ્રત્યેક કોષ દીઠ વધુમાં વધુ 10-100 નકલો ધરાવે છે. જો આપણે બૅક્ટેરિયોફેઝ કે પ્લાસ્મિડ DNA સાથે DNAના ઇચ્છિત ટુકડાને જોડવા સમર્થ છીએ, તો આપણે બૅક્ટેરિયોફેઝ કે પ્લાસ્મિડની નકલ સંખ્યા જેટલી જ (એકસરખી) સંખ્યામાં તેને બહુગુણિત કરી શકીએ છીએ.

વાહકોમાં સાનુકૂલિત પ્રતિકૃતિઓ માટે નીચેની ખાસિયતો જરૂરી છે :

(i) સ્વયંજનનની ઉત્પત્તિ (Origin of Replication) : સ્વયંજનનની ઉત્પત્તિ એ જ્યાં સ્વયંજનનની શરૂઆત થાય છે, તે જગ્યાએ જીનોમમાં ચોક્કસ શૃંખલા છે. DNAનો કોઈ પણ ટુકડો જ્યારે આ શૃંખલા સાથે જોડાય છે, ત્યારે તે યજમાનકોષમાં સ્વયંજનિત થઈ શકે છે. જોડાણ પામતા DNAની નકલ સંખ્યાના નિયંત્રણ માટે પણ આ શૃંખલા જવાબદાર છે.

(ii) પસંદગીમાન રેખક (Selectable Marker) : સ્વયંજનનની ઉત્પત્તિની બાજુમાં, વાહક એ પસંદગીમાન રેખક ધરાવે છે. પસંદગીમાન રેખક એ એક પ્રકારનાં જનીનો છે કે જે ઓળખ તથા અપરિવર્તનીય ઘટકોના વિલોપનમાં અને પરિવર્તનશીલ ઘટકોની વૃદ્ધિ માટે પસંદગીમાન અનુમતિમાં મદદ કરે છે. તેઓ ઘણીવાર પ્રતિજૈવિક અવરોધક જનીનો ધરાવતાં હોવાથી તેઓ પ્રતિજૈવિક દ્રવ્યો જેવા પસંદગીમાન સભ્ય (વરણી કારક)થી સજીવને રક્ષણ આપે છે, તે સામાન્ય રીતે તેને મારી નાખે છે કે તેની વૃદ્ધિને અવરોધે છે. સામાન્ય રીતે, જનીનો E.coli માટે ઉપયોગી વરણ રેખકો સૂચિત કરતા એમ્પિસિલિન, ક્લોરામ્ફેનિકોલ, ટેટ્રાસાયક્લિન કે કેનામાયસિન જેવા પ્રતિજૈવિક દ્રવ્યોનું સાંકેતિક અવરોધન કરે છે. સામાન્ય *E.coli* કોષો આ પ્રતિજૈવિક દ્રવ્યો પૈકી કોઈ પણનું અવરોધન કરતા નથી.

(iii) ક્લોનિંગ જગ્યાઓ (Cloning Sites) : ઈચ્છિત DNAનું જોડાણ કરવા માટે, વાહક થોડાક જ પ્રમાણમાં તથા શક્ય હોય ત્યાં સુધી રિસ્ટ્રિક્શન ઉત્સેચકો (Restriction Enzymes)ના ઉપયોગ માટે સામાન્યતઃ એક જ ઓળખ જગ્યા હોવી જોઈએ. પ્લાસ્મિડ pBR322 તેની સાથે સ્વયંજનનની ઉત્પત્તિ દર્શાવતી શૃંખલાઓ અને બે પ્રતિજૈવિક અવરોધક જનીનો લઈ જાય છે : amp^R (એમ્પિસિલિન અવરોધક-ampicillin Resistance) અને tet^R (ટેટ્રાસાયક્લિન અવરોધક-Tetracycline Resistance). આ પ્રતિજૈવિક અવરોધક જનીનો એ પ્રતિબંધક ઉત્સેચકીય ઓળખ-જગ્યાઓ (Restriction Enzymes Recognition Sites) ધરાવે છે. amp^R જનીન એ Pst I માટેની ઓળખ-જગ્યા ધરાવે છે, જ્યારે tet^R જનીન એ Hind III, Bam H I and Sal I માટેની ઓળખ-જગ્યાઓ ધરાવે છે.



ઈ-કોલાઈના પ્લાસ્મિડ ક્લોનિંગ વાહકની રચના

ઉદાહરણ તરીકે જો પરજાત DNA અને પ્લાસ્મિડ પણ Bam H I સાથે કપાય તો તેઓને લાઈગેઝ ઉત્સેચક વડે પુનઃસંયોજિત કરી શકાય છે અને જોડી પણ શકાય છે. જોકે Bam H I એ જ્યાંથી પ્લાસ્મીડને કાપે છે, ત્યાં જનીનમાં ટેટ્રાસાયક્લિન અવરોધન માટેના સંકેતો હોય છે, જેથી ટેટ્રાસાયક્લિન અવરોધન નિષ્ક્રિય બને છે. આ રીતે પુનઃસંયોજિત પામતા ઘટકોને એમ્પિસિલિન સમાવિષ્ટ માધ્યમ પર રહેલા પરિવર્તનીય ઘટકોના પ્લેટિંગ (વિદ્યુતલેપન) દ્વારા પુનઃસંયોજિત ન પામતા ઘટકોથી અલગ પસંદગી કરી શકાય છે. એમ્પિસિલિન સમાવિષ્ટ માધ્યમમાં પુનઃસંયોજિત પામતા ઘટકોનો ઉછેર થાય છે, પરંતુ ટેટ્રાસાયક્લિન સમાવિષ્ટ માધ્યમ પર નહીં.

(iv) વનસ્પતિઓ અને પ્રાણીઓમાં ક્લોનિંગ જનીનો માટે વાહકો (Vectors for Cloning Genes in Plants and Animals) : ક્લોનિંગ વાહક એ એવા વાહક DNA અણુ છે કે જેમાં ઈચ્છિત DNAનો ટુકડો સંકલિત થવા છતાં પણ વાહક અણુ સ્વયંજનન માટેની તેની ક્ષમતા ગુમાવતા નથી. તે યજમાનકોષોમાં ઈચ્છિત (દાતા) DNAને દાખલ કરવા માટે ઉપયોગી છે. એગ્રોબૅક્ટેરિયમ ટ્યુમીફેસિયન્સના ગાંઠપ્રેરક પ્લાસ્મિડ (Tumor Inducing (Ti) Plasmid) કે જે રોગકારક છે અને મોટા ભાગની દ્વિદળી વનસ્પતિઓમાં ગાંઠ (Tumor)ના ઉત્પાદન માટે જવાબદાર છે, હાલમાં તેને ક્લોનિંગ વાહક (Cloning Vector)માં

રૂપાંતરિત કરવામાં આવે છે કે જે વનસ્પતિઓમાં રોગકારક નથી, પરંતુ તે આપણી રુચિ પ્રમાણેના જનીનોને વિવિધ વનસ્પતિઓમાં દાખલ કરવાની પદ્ધતિનો ઉપયોગ કરે છે. એ જ રીતે રિટ્રોવાઈરસ એ સામાન્ય કોષોને કેન્સરગ્રસ્ત કોષોમાં પરિવર્તિત કરવાની ક્ષમતા ધરાવે છે, જે હાલમાં રૂપાંતરિત કરીને પ્રાણીકોષોમાં ઇચ્છિત જનીનોને દાખલ કરવામાં ઉપયોગી છે.

(3) હરીફ યજમાન (Competent Host) : સામાન્ય રીતે DNA જલાનુરાગી અણુ હોવાથી તે કોષરસસ્તરમાંથી પસાર થઈ શકતો નથી. તેથી પુનઃસંયોજિત DNAને બાહ્યબળ દ્વારા બૅક્ટેરિયામાં દાખલ કરવા બૅક્ટેરિયલ કોષને હંમેશાં DNAને સ્વીકારવા માટે હરીફ બનાવવામાં આવે છે, જે નીચે પ્રમાણે કરી શકાય છે.

- સારવાર આપવામાં આવેલ કોષો (Treating Cells) અને વધુ Ca^{2+} સાથેના DNAને સારવાર અપાતાં કોષ DNAને પ્રવેશ કરાવે છે. વધુ Ca^{2+} ના કારણે રસસ્તરમાં બદલાવ આવે છે અને DNAના વહન માટે અવરોધો ઓછા થાય છે. બરફ પર કોષો સાથે પુનઃસંયોજિત DNA ઉષ્માનિયંત્રિતતા દ્વારા પુનઃસંયોજિત DNAએ બૅક્ટેરિયલ કોષોમાં ધકેલાય છે, પછી તેને 42^0 સે તાપમાને રાખી ફરીથી પાછું બરફ પર મૂકવામાં આવે છે.

- **વિદ્યુતછિદ્રતા (Electroporation) :** પુનઃસંયોજિત DNAના પ્રવેશ માટે કોષરસસ્તરને પ્રવેશશીલ બનાવવા કોષોને ઊંચા વીજપ્રવાહના ત્વરિત થડકાર (ધબકાર) આપવામાં આવે છે.

- **સૂક્ષ્મ અંતઃક્ષેપણ (Micro-injection) :** પુનઃસંયોજિત DNA એ સૂક્ષ્મ અંતઃક્ષેપણ દ્વારા પ્રાણીકોષના કોષકેન્દ્રમાં સીધી રીતે અંતઃક્ષિપ્ત થાય છે.

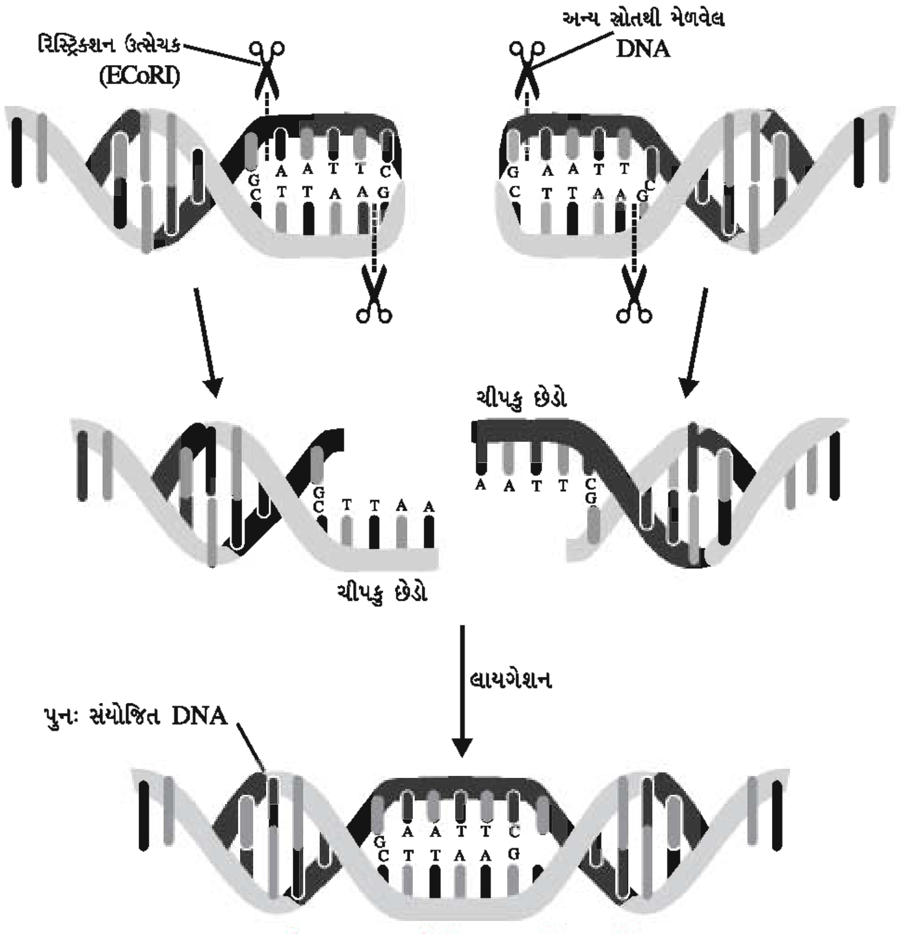
- **મેદસ્વીકરણ (Lipofection) :** પુનઃસંયોજિત DNAને ચરબી (મેદ)થી આવરિત કરવામાં આવે છે, જેથી કોષરસસ્તર તેને પસાર થવાની અનુમતિ આપે છે.

- **કણીય પ્રચંડવર્ષણ (Particle Bombardments) :** પુનઃસંયોજિત DNA ટંગસ્ટન કે સ્વર્ણ (સોના)ના લઘુ તીવ્ર વેગીય કણો (Tiny High Velocity Particles) દ્વારા આવરિત કરાય છે અને પછી વિસ્ફોટ (મારો) દ્વારા કોષોમાં દાખલ કરાય છે. આ પદ્ધતિ જૈવપ્રાક્ષેપિકી (Biolistics) કે જનીન સ્ફોટક (Gene Gun) તરીકે પણ જાણીતી છે.

પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીની ક્રિયાવિધિ (Process of Recombinat DNA Technology) : પુનઃસંયોજિત DNA એ બે કે વધુ સજીવોમાંથી DNAના જોડાણ થકી એક જ પુનઃસંયોજિત અણુમાં કૃત્રિમ DNAનું સર્જન છે. પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીને એક સજીવમાંથી બીજા સજીવ (યજમાનકોષ)માં DNAના ખંડનું સ્થાનાંતરણ કરવાની પદ્ધતિ તરીકે ઉલ્લેખી શકાય કે જ્યાં તે પુનઃનિર્મિત થાય છે. આ પ્રવિધિમાં નીચેનાં ક્રમિક સોપાનો સમાવિષ્ટ છે :

(1) જનીનદ્રવ્ય (DNA)નું અલગીકરણ (Isolation of the Genetic Material) : રુચિ પ્રમાણેના જનીનોના (દા.ત., દાતા (Donor) DNAના) અલગીકરણની સાથે પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીની શરૂઆત થઈ. આ દાતા (Donor) DNA ઉત્સેચક દ્વારા DNAને તોડવાથી મેળવી શકાય છે. રિસ્ટ્રિક્શન ઉત્સેચકથી DNAને તોડવા માટે તે શુદ્ધ સ્વરૂપમાં અને બીજા મહાઅણુઓની ભેળસેળથી મુક્ત હોવો જોઈએ. સુકોષકેન્દ્રિય કોષમાં, DNA કોષરસસ્તરથી ઘેરાયેલ હોવાથી આપણે કોષરસસ્તરને તોડીને, RNA, પ્રોટીન, કાર્બોદિતો અને ચરબી જેવા બીજા અણુઓની સાથે DNAને મુક્ત કરીએ છીએ. તેને બૅક્ટેરિયલ કોષ કે વનસ્પતિ કોષ કે પ્રાણી કોષને લાયસોઝાઈમ (બૅક્ટેરિયા,) સેલ્યુલેઝ(વનસ્પતિકોષો) અને કાઇટીનેઝ (ફૂગ) વગેરે જેવા ઉત્સેચકોની સારવાર આપી સાથે મેળવી શકાય છે. RNAને રિબોન્યુક્લિએઝ ઉત્સેચકની સારવારથી દૂર કરાય છે, જ્યારે પ્રોટીનને પ્રોટીએઝ ઉત્સેચકની સારવાર દ્વારા દૂર કરાય છે. બીજા અણુઓને યોગ્ય સારવાર દ્વારા દૂર કરાય છે અને છેલ્લે ઠંડો ઇથેનોલ ઉમેરી શુદ્ધ સ્વરૂપમાં DNAનું અવક્ષેપન (Precipitation) કરાય છે.

(2) ચોક્કસ જગ્યાએથી DNAની કાપણી (Cutting of DNA at Specific Locations) : આમ કરવા દાતા કોષમાંથી જાણીતી DNA શૃંખલાને ઓળખી અને પ્રતિબંધક ઉત્સેચક સાથે દૂર કરવામાં આવે છે. દરેક DNAનો ટુકડો કાપીએત્યારે તે તેના અંતિમ છેડાઓ પર એકસૂત્રીય DNAનો પ્રલંબિત (Overhanging) ભાગ ધરાવતો હોય છે, જેને ચીપકુ છેડાઓ (Sticky Ends) કહેવામાં આવે છે. લાઈગેઝ ઉત્સેચકની હાજરીમાં આ ચીપકુ છેડાની મદદથી, બંધબેસતા પૂરક ચીપકુ છેડા ધરાવતા કોઈ પણ DNA અણુ સાથે જોડાવા માટે આ ટુકડો કે ખંડ સક્ષમ બને છે. એગેરોઝ જેલ ઈલેક્ટ્રોફોરેસીસ (Agarose gel electrophoresis – એગેરોઝ જેલ વિજસંરૂપન)ના ઉપયોગથી DNA ના ટુકડાઓ જુદા કે અલગ કરી શકાય છે. ફૉસ્ફેટ સમૂહ હોવાના કારણે, DNA એ ઋણવીજભારિત હોય છે અને તે અર્ધઘન ઘટ્ટ માધ્યમમાં મૂકતાં અને વીજક્ષેત્રના પ્રયોજનથી DNA અણુઓ ધન ધ્રુવ તરફ સ્થળાંતરિત થાય છે.

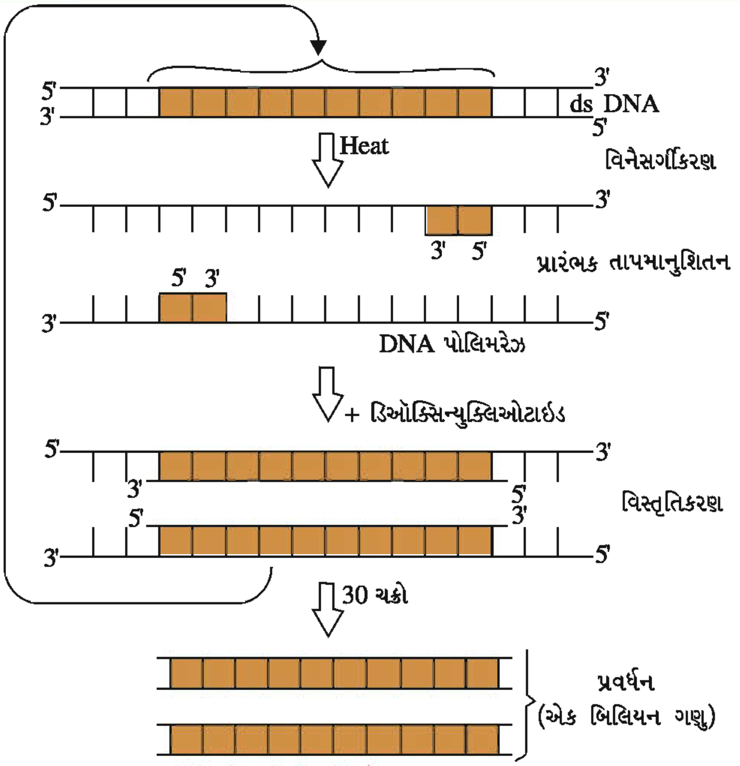


ચોક્કસ જગ્યાએથી DNAની કાપણી

(3) PCRના ઉપયોગથી રુચિ પ્રમાણેના જનીનોનું પ્રવર્ધન (Amplification of Gene of interest Using PCR) : પોલિમરેઝ ચેઈન રિએક્શન-PCR (બહુલકીય ઉત્સેચક શૃંખલિત પ્રતિક્રિયા)નો ઉપયોગ કરી ટૂંકી DNA શૃંખલાની એકરૂપ (સરખી) નકલો ઉત્પન્ન કરવામાં આવે છે. આ પ્રક્રિયા નીચેના ત્રણ તબક્કાઓમાં સમાવિષ્ટ છે :

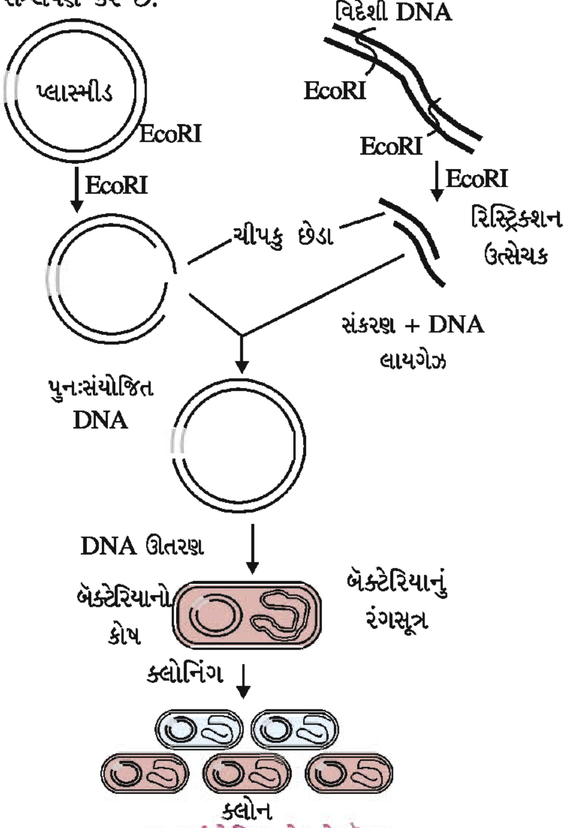
(i) વિનૈસર્ગીકરણ (Denaturation) : ઈચ્છા મુજબના DNA અણુ 90-95^0 સે જેટલી ગરમીથી વિનૈસર્ગીકૃત કરવામાં આવે છે. તેઓને એકબીજા સાથે જકડી રાખતા હાઈડ્રોજન-બંધોના તૂટવાથી આ (દ્વિસૂત્રીય) DNAની બે શૃંખલાઓ છુટી પડે છે.

(ii) તાપમાનુશિત (Annealing) : વધારાના ન્યુક્લિઓટાઈડ (નવા DNA દ્રવ્યના પાયાના ખંડકો)ની હાજરીમાં, ઓલીગોન્યુક્લિઓટાઈડ (ઓછા એકમો યુક્ત ન્યુક્લિઓટાઈડ) પ્રારંભકો (Primers) ઉમેરાય છે. પ્રારંભક એ લક્ષ શૃંખલાના અંતિમ છેડે બંધબેસતું કે પૂરક હોય છે પરંતુ વિરુદ્ધ શૃંખલાઓ પર પથરાયેલું (પ્રતિસૂત્રી આચ્છાદિત) હોય છે. સંમિશ્રણને નીચા તાપમાને (50-65^0 સે) લાવતા DNA અણુની દરેક શૃંખલા એ ઓલીગોન્યુક્લિઓટાઈડ પ્રારંભક સાથે તાપમાનુશિત બને છે.



પોલિમરેઝ ચેઈન રિએક્શન (PCR)

(iii) વિસ્તૃતિકરણ (Extension) : DNA પોલિમરેઝ (થર્મસ એક્વેટિક્સ *Thermus aquaticus* નામના બૅક્ટેરિયામાંથી અલગ કરવામાં આવેલ) ઉત્સેચક ઉમેરવાથી બંધબેસતા કે પૂરક શૃંખલાઓ સંશ્લેષિત થાય છે. પોલિમરેઝ એ 5' થી 3' દિશામાં નવી શૃંખલાનું સંશ્લેષણ કરે છે.



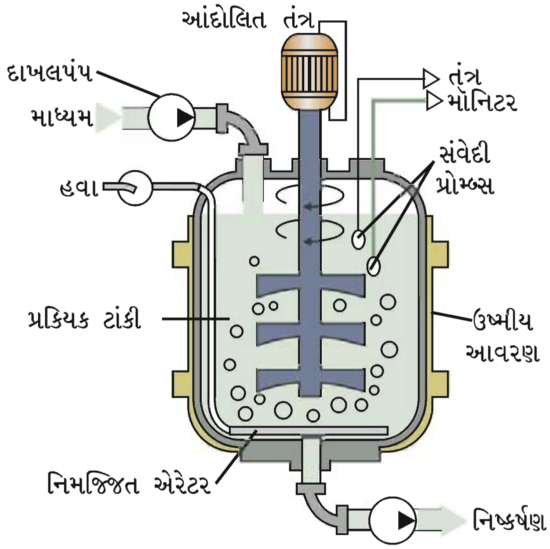
પુનઃસંયોજિત ટેક્નોલૉજી

જો આ પ્રવિધિ (પ્રક્રિયા) ઘણી વખત પુનરાવર્તિત થાય, તો DNAના ખંડો આશરે અબજો વખત (Billion Times) પ્રવર્ધિત થઈ શકે છે. દા.ત., અબજ નકલો બને છે.

(4) યજમાનકોષ કે સજીવમાં પુનઃસંયોજિત DNAનું ઊતરણ (Insertion of Recombinant DNA into the Host Cell / Organism) : રૂપાંતરણ (Transformation) કહેવાતી પ્રક્રિયા દ્વારા યજમાનકોષમાં પુનઃસંયોજિત DNA ઓળખ પામે છે. ગ્રાહીકોષો તેને સ્વીકારવા માટે હરીફ બન્યા પછી, તેની ફરતે રહેલા DNAને ગ્રહણ કરે છે. જો પુનઃસંયોજિત DNA પ્રતિજૈવિક અવરોધક જનીન (દા.ત. એમ્પિસિલિન) ધરાવતો હોય, તો તેને *E. coli* કોષોમાં સ્થાનાંતરિત કરાતાં યજમાનકોષો એ એમ્પિસિલિન અવરોધક કોષોમાં રૂપાંતરિત થાય છે (પરિણમે છે). જો આપણે આવા રૂપાંતરિત થયેલા કોષોને એમ્પિસિલિન ધરાવતી અગર પ્લેટ (અગર તક્તિઓ-Agar Plates) પર મૂકીએ, તો ફક્ત રૂપાંતરિત થયેલા ઘટકો જ વૃદ્ધિ પામે છે અને રૂપાંતરિત ન થયેલા ગ્રાહીકોષો મૃત્યુ પામે છે. આવા કિસ્સામાં એમ્પિસિલિન પ્રતિજૈવિક અવરોધક જનીનને પસંદગીમાન રેખક (Selectable Marker) કહે છે.

(5) વિદેશી (બહારની) જનીન-નીપજ મેળવવી (Obtaining the Foreign Gene Product) : ઇચ્છિત પ્રોટીનનું ઉત્પાદન કરવું તથા ગ્રાહીકોષમાં અભિવ્યક્ત થવા જનીનની ઓળખ કરવી એ પુનઃસંયોજિત ટેક્નોલૉજીનો અંતિમ કે છેલ્લો હેતુ છે. આબેહૂબ પ્રતિકૃત જનીનો (Cloned Genes) ધરાવતા ગ્રાહીકોષોનો પ્રયોગશાળામાં ઓછા પ્રમાણમાં ઉછેર શક્ય બને છે. ઇચ્છિત પ્રોટીનના નિષ્કર્ષણ (અર્ક) માટે સંવર્ધનનો ઉપયોગ કરી શકાય છે અને પછી જુદી-જુદી અલગીકરણ પદ્ધતિઓનો ઉપયોગ કરી તેનું શુદ્ધીકરણ કરવામાં આવે છે.

નીપજો (પેદાશો)ના મોટા પ્રમાણમાં ઉત્પાદન માટે જૈવભઠ્ઠીનો વિશાળ ફલક (100-1000 લિટર) પર ઉપયોગ કરી શકાય છે. જૈવપ્રક્રિયકો (જૈવભઠ્ઠી) એ ઇચ્છિત નિપજ મેળવવા માટે ઇષ્ટતમ પરિસ્થિતિ પૂરી પાડે છે. આમ, તે તાપમાન, pH, પદાર્થો, ક્ષાર, વિટામિન કે ઑક્સિજન વગેરે જેવી ઇષ્ટતમ વૃદ્ધિ માટે પરિસ્થિતિ પૂરી પાડે છે.



જૈવભઠ્ઠી

(6) અનુપ્રવાહિત સંસાધન (Downstream Processing) : નીપજોની પૃથક્કરણ (વિયોજન) અને શુદ્ધીકરણ જેવી પ્રવિધિઓને સામૂહિક રીતે અનુપ્રવાહિત સંસાધન તરીકે ઉલ્લેખવામાં આવે છે. નીપજોને યોગ્ય પરિરક્ષકોથી પરિરક્ષિત કરવી જોઈએ.

સારાંશ

બાયોટેક્નોલૉજીને સૂક્ષ્મ જીવાણુઓ, પ્રાણી કે વનસ્પતિકોષોનો ઉપયોગ અથવા તેઓના ઘટકોથી બનતી નીપજો (પેદાશો) અને માનવજાત માટે ઉપયોગિતા તરીકે વ્યાખ્યાયિત કરી શકાય. જનીન ઇજનેરીવિદ્યા અને રાસાયણ ઇજનેરી પ્રક્રિયાઓમાં વંધ્ય પરિસ્થિતિની જાળવણી(વ્યવસ્થાપન)એ આધુનિક બાયોટેક્નોલૉજીને જન્મ આપ્યો છે.

પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીના મહત્ત્વના (પાયાના) સિદ્ધાંતો : DNAના ટુકડાઓનું નિર્માણ અને DNAના ઇચ્છિત લક્ષણો ધરાવતા ટુકડાઓની પસંદગી, પસંદ કરેલ DNAના ટુકડાનું ક્લોનિંગ વાહક (પ્રતિકૃતિ કે આબેહૂબ નકલ ધરાવતા વાહક)માં ઊતરણ. દા.ત. પ્લાસ્મિડ, પુનઃસંયોજિત DNAનું સર્જન, યજમાન(પોષિતા)કોષોમાંથી પુનઃસંયોજિત વાહકોની ઓળખ. (દા.ત. બૅક્ટેરિયા), પુનઃસંયોજિત અણુઓ ધરાવતા ક્લોન્સ પ્રતિકૃતિઓનું બહુગુણન અને પસંદગી, જનીનની અભિવ્યક્તિ દ્વારા ઇચ્છિત નીપજની બનાવટ કે ઉત્પત્તિ, પુનઃસંયોજિત DNAમાં રિસ્ટ્રિક્શન ઉત્સેચકો (Restriction Enzymes), પ્રતિકૃતિ બનાવતા વાહકો (Cloning Vectors) અને હરીફ યજમાન (Competent Host) ઉપકરણો જરૂરી છે :

પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીને એક સજીવમાંથી બીજા સજીવ (યજમાનકોષ)માં DNAના ખંડનું સ્થાનાંતરણ કરવાની પદ્ધતિ તરીકે ઉલ્લેખી શકાય કે જ્યાં તે પ્રજનનીત થાય છે. આ પ્રવિધિમાં જનીનદ્રવ્યનું અલગીકરણ, ચોક્કસ જગાએથી DNAની કાપણી (Cutting of DNA at specific locations), PCRના ઉપયોગથી રુચિ પ્રમાણેના જનીનોનું પ્રવર્ધન (Amplification of gene of interest using PCR), યજમાનકોષ કે સજીવમાં પુનઃસંયોજિત DNAનું ઊતરણ (Insertion of Recombinat DNA into the Host Cell / Organism), વિદેશી (બહારની)થી જનીન-નીપજ મેળવવી (Obtaining the Foreign Gene product) જેવાં ક્રમિક સોપાનો સમાવિષ્ટ છે.

સ્વાધ્યાય

1. નીચે આપેલા પ્રશ્નોના ઉત્તરો પૈકી સાચા ઉત્તરો સામે સર્કલમાં પેન્સિલથી રંગ પૂરો :

(1) ઘેટા અને ઢોર જેવાં પ્રાણીઓનો પશુધન તરીકેનો ઉપયોગ કરવા માટે પાલતુ બનાવવા એ ઉદાહરણ છે.

(a) વનસ્પતિસંવર્ધન ○ (b) પ્રાણીસંવર્ધન ○

(c) બાયોટેક્નોલૉજી ○ (d) જનીન ઇજનેરીવિદ્યા ○

(2) Bt કપાસ એ છે.

(a) પારજનીનિક પ્રાણી ○ (b) પારજનીનિક વનસ્પતિસંવર્ધન ○

(c) પેશી-સંવર્ધનની નીપજ ○ (d) પરિવર્તનશીલ તત્ત્વો ○

(3) GMOનું પૂર્ણ નામ છે.

(a) જિનેટીકલી મેચ્યોર્ડ ઑર્ગેનિઝમ ○ (b) જિનેટીકલી મોડીફાઇડ ઑર્ગેનિઝમ ○

(c) જીન્સ મોડીફાઇડ ઇન ઑર્ગેનિઝમ્સ ○ (d) જીન્સ મોડીફાઇડ ઑર્ગન્સ ○

(4) વિશિષ્ટ ક્રમ કે જે DNA સ્વયંજનનનો પ્રારંભ કરે તેને કહે છે.

(a) સ્વયંજનનનું બિંદુ ○ (b) સ્વયંજનનની ઉત્પત્તિ ○

(c) સ્વયંજનનનો ક્રમ ○ (d) સંકલિત DNA સ્વયંજનનનું બિંદુ ○

(5) આજદિન સુધી કેટલા રિસ્ટ્રિક્શન ઉત્સેચકો અલગ કરવામાં આવ્યા છે ?

(a) 700થી વધુ ○ (b) 800થી વધુ ○

(c) 900થી વધુ ○ (d) 600થી વધુ ○

(6) EcoRIમાં R એ વ્યુત્પિત છે.

(a) રેપ્લિકેશન ○ (b) રિસ્ટ્રિક્શન ○

(c) જાતિનું નામ ○ (d) રિપીટેશન ○

(7) રિસ્ટ્રિક્શન ઉત્સેચક કયા વર્ગમાં સમાવેશિત છે ?

(a) પોલિમરેઝીઝ ○ (b) ન્યુક્લિએઝીઝ ○

(c) એન્ડોન્યુક્લિએઝીઝ ○ (d) આઇસોમરેઝીઝ ○

(8) ખૂબ જ અગત્યના ક્લોનિંગ વાહકો છે.

(a) કોસ્મિડ્સ ◯ (b) પ્લાસ્મિડ્સ ◯

(c) પ્લાસ્મિડ્સ અને બૅક્ટેરિયોફેઝીઝ ◯ (d) પુનઃસંયોજિત DNA ◯

(9) .... સામાન્ય કોષને કૅન્સરકોષમાં રૂપાંતરિત કરી શકે છે.

(a) એગ્રોબૅક્ટેરિયમ ◯ (b) રિટ્રોવાઈરસ ◯

(c) પુનઃસંયોજિત DNA ◯ (d) એન્ડોન્યુક્લિએઝ ◯

(10) નીચેની કઈ પદ્ધતિમાં પુનઃસંયોજિત DNAના પ્રવેશ માટે કોષરસ:સ્તરને પ્રવેશશીલ બનાવવા કોષોને ઊંચા વીજપ્રવાહના ત્વરિત થડકાર (ધબકાર) આપવામાં આવે છે ?

(a) સૂક્ષ્મ-અંતઃક્ષેપણ ◯ (b) વિદ્યુતછિદ્રતા ◯

(c) મેદસ્વીકરણ ◯ (d) કણીય પ્રચંડવર્ષણ ◯

2. નીચેના પ્રશ્નોના ટૂંકમાં જવાબ આપો :

(1) ક્યા તાપમાને ઇચ્છિત DNA અણુ વિનૈસર્ગિકૃત થાય છે ?

(2) PCRનું પૂર્ણ નામ આપો.

(3) રૂપાંતરણને વ્યાખ્યાયિત કરો.

(4) પુનઃસંયોજિત DNAનો અર્થ તમે શું કરશો ?

(5) પેલીન્ડ્રોમિક ક્રમ એટલે શું ?

(6) સૂક્ષ્મ અંતઃક્ષેપણ અને મેદસ્વીકરણ વ્યાખ્યાયિત કરો.

(7) કણીય પ્રચંડવર્ષણ શું છે ?

(8) લાઇગેઝનું કાર્ય શું છે ?

(9) પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીમાં જૈવભઠ્ઠીનો ફાળો લખો.

(10) અનુપ્રવાહિત સંસાધનનો અર્થ તમે શું કરશો ?

3. માગ્યા પ્રમાણે જવાબ આપો :

(1) પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીમાં જૈવભઠ્ઠીનો ફાળો શું છે ?

(2) જનીનોના પ્રવર્ધનની તાપમાનુશિતન અવસ્થા સમજાવો.

(3) પુનઃસંયોજિત DNA ટેક્નોલૉજીના પાયાના સિદ્ધાંતો જણાવો.

(4) રિસ્ટ્રિક્શન ઉત્સેચકો કેવી રીતે નામાંકિત થાય છે ?

(5) એન્ડોન્યુક્લીએઝ અને એક્સોન્યુક્લીએઝ ઉત્સેચકોનાં કાર્યો શું છે ?

(6) વરણચિહ્નો શું છે ?

(7) પ્રતિકૃતિ બનાવતા વાહકો (ક્લોનિંગ વાહકો) પર નોંધ લખો.

(8) જનીનદ્રવ્યના અલગીકરણની પદ્ધતિનાં સોપનો સમજાવો.

(9) યજમાનકોષમાં પુનઃસંયોજિત DNA કેવી રીતે દાખલ કરાય છે તે સમજાવો.

(10) વિદેશી જનીન-નીપજ કેવી રીતે મેળવી શકાય છે ? સમજાવો.

4. નીચેના પ્રશ્નો સવિસ્તર વર્ણવો :

(1) બાયોટેક્નોલૉજીના સિદ્ધાંતો વર્ણવો.

(2) પુનઃસંયોજિત DNAના ઉત્પાદનમાં ઉપયોગી ઉપકરણો સમજાવો.

(3) પુનઃસંયોજિત DNA પદ્ધતિ વર્ણવો.