- किसी भी पादप का रोमीय मूल संवर्धन inoculating thick bacterial suspension और सतह निर्जमीत पति डिस्क अथवा Plantlet के स्तंभ अथवा बीज अथवा स्तंभ खण्ड (हरे पादप से) द्वारा प्रारम्भ किया जा सकता है।

सुनहरा चावल (Golden Rice)

विटामिन A की कमी से बच्चे अंधे हो जाते हैं, और उनकी मौत भी हो सकती है। सामान्यतया, विटामिन A की कमी उन क्षेत्रों में पाई जाती है, जहाँ चावल प्रमुख भोजन होता है। इसका कारण यह है कि चावल में प्रोविटामिन A या B कैरोटीन नहीं होता है। इस दशा सुधार के लिये तीन पारजीनों का ऐग्रोबैक्टीरियम द्वारा धान में स्थानांतरण किया गया है।

ये तीन जीन निम्नलिखित हैं: (1) फाइटोईन सिंथेस (phytoene synthase), (2) फाइटोईन डिसेचुरेस (phytoene desaturase), एवं (3) लाइकोपीन साइक्लेस (lycopene cyclase)।

इन तीनों जीनों को अभिव्यक्त करने वाले विभेद (strain) के दानों में B-कैरोटीन की पर्याप्त मात्रा उपस्थित होती है, और **इस कारण इन चावलों का रंग सुनहरा होता है। इसीलिये इसे सुनहरा चावल कहते हैं।**

भोजन में लोहे की कमी विश्व की पोषण संबंधी एक प्रमुख समस्या है।

चावल में लोहे का अंश अपेक्षाकृत बहुत कम होता है, और इसमें फाइटेट (phytate) भी उपस्थित होता है। फाइटेट बीजों में फास्फोरस के भंडारण का काम करता है, और वह भोजन में उपस्थित लोहे की उपलब्धता को घटाता है। वैसे भी शाकाहारी भोजन से लोह अवशोषण (absorption) कम ही हो पाता है।

उच्च लौह अंश वाले धान के एक विभेद को निम्नलिखित तीन पारजीनों को स्थानांतरित करके प्राप्त किया गया है:
(1) फेरेटिन (ferretin) कोडित करने वाला जीन,
(2) मैटैलोथायनिन (metallothionein) जीन एवं
(3) तापस्थिर (heat stable) फाइटेस (phytase) कोडित करने वाला जीन।

इस उच्च लौह अंश विभेद का 'सुनहरे चावल' विभेद से संकरण करके एक 'उच्च लौह' उच्च प्रोविटामिन A' लाइन प्राप्त की गई है। इस लाइन से प्राप्त चावल के उपयोग से लोहे एवं विटामिन A की कमियों को समाप्त करने में सहायता मिलेगी।

वास्तव में, अब उपरोक्त सुनहरे चावल की तुलना में कई गुना अधिक B-कैरोटीन-युक्त 'सुनहरे चावल' के विभेद का विकास किया जा चुका है।

प्रति-अर्थक RNA टेक्नोलाजी (Antisense RNA Technology)

किसी भी जीन के अनुलेखित (transcribe) होने वाले रज्जुक का 3'-छोर उस जीन के प्रमोटर के साथ जुड़ा होता है। इस रज्जुक को प्रति-अर्थक रज्जुक (anti-sense strand) कहते हैं, और इसका क्षारक क्रम जीन द्वारा उत्पादित mRNA के क्षारक क्रम का पूरक होता है। इस जीन का दूसरा रज्जुक अर्थक रज्जुक (sense strand) कहा जाता है, क्योंकि इसका क्षारक क्रम ठीक वही होता है, जो mRNA का होता है।

यहाँ ध्यान देने योग्य है कि जीन में mRNA के U के स्थान पर T होता है। इसके साथ ही, अर्थक रज्जुक में इंट्रान भी होंगे, जो mRNA में नहीं होते हैं। अतः उपरोक्त कथन जीन के एक्जान क्रमों (exon sequences) के लिए ही सही है। अब यदि किसी जीन के कोडन (coding) क्रम को लंबाई में 180° घुमा दिया जाय (अर्थात उसे प्रतिलोमित, invert, कर दिया जाय) तो इस जीन के अर्थक रज्जुक का 3'-छोर इसके प्रमोटर से जुड़ जाएगा।

अतः इस दिक्न्यास वाले जीन का अर्थक रज्जुक अनुलेखित होगा, और इस प्रकार प्राप्त RNA का क्रम ठीक वही होगा जो इस जीन के प्रति-अर्थक रज्जुक का है।

इस कारण, इस RNA को प्रति-अर्थक RNA, इस जीन रचना को प्रति-अर्थक जीन रचना, तथा इस प्रकार की जीन रचना के संयोजन को प्रति-अर्थक दिक्न्यास (orientation) कहते हैं।

जिस अंतर्जात (endogenous) जीन का दमन करना होता है (लक्ष्य जीन), उसकी प्रति-अर्थक जीन रचना तैयार करके पौधों के जिनोम में समाकलित करते हैं। ऐसे पारजीनी पौधों के प्रत्येक केंद्रक में लक्ष्य जीन की एक अर्थक तथा एक प्रति-अर्थक प्रतियाँ उपस्थित होंगी, जिनके अनुलेखन से क्रमशः अर्थक(sense) एवं प्रति-अर्थक RNA(antisense) प्राप्त होंगे। प्र

ति-अर्थक RNA अर्थक R (= mRNA) से क्षारक-युग्मन करेगा, जिससे द्विरज्जुकी (double-stranded) RNA अणु बनेंगे।
(1) इन RNA अणुओं में उपस्थित अर्थक RNA (=mRNA) का अनूदन (translation) नहीं हो सकेगा,
(2) इनको द्विरज्जुक RNA-विशिष्ट RNases अपघटित (degrade) करते हैं, जिससे
(3) लक्ष्य जीन के प्रमोटर एवं कोडन क्रमों का मेथिलीकरण (methylation) होता है, और
(4) इसके फलस्वरूप, इस जीन की अभिव्यक्ति कम/समाप्त हो जाती है।
इस घटनाक्रम को जीन निःस्वरण (gene silencing) कहते हैं।

प्रति-अर्थक RNA विधि के कुछ सफल उपयोग नीचे दिये गए हैं।

टमाटर का पालीगैलैक्टयूरोनेस (polygalacturonase: PG) एन्जाइम कोशिका भित्ति के एक प्रमुख घटक पेक्टिन (pectin) का पाचन करता है। इस कारण फल जल्दी ही नरम एवं पिल-पिले हो जाते हैं।

यदि फलों में PG एन्जाइम की क्रिया घटा दी जाये तो फल अधिक दिनों तक ताजे बने रहेंगे। इसके लिए PG एन्जाइम कोडित करने वाले जीन की एक प्रति एक-अर्थक रचना को टमाटर में स्थानांतरित किया गया। **इस प्रकार के पारजीनी पौधों में PG की क्रिया बहुत कम हो गई, जिससे उसके फल देर से नरम होते हैं। इस प्रकार की एक किस्म को 'फ्लेवर सेवर' (Flavr Savr) कहा जाता है,** और इसे संयुक्त राज्य अमेरिका में व्यापारिक स्तर पर उगाने के लिये स्वीकृति दी गई है।

वनस्पति तेलों के वसीय अम्ल संघटन को प्रति-अर्थक टेक्नोलाजी द्वारा परिवर्तित कर सकते हैं। उदाहरणार्थ, एन्जाइम स्टिएरोइल-ACP डिसेचुरेस (ACP = acyl-carrier protien, एसिल वाहक प्रोटीन) स्टिएरोइल-ACP का ओलिओइल-ACP में 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 (= ब्रै. कैम्पेस्ट्रिस) एवं वॅ. नेपस में स्थानांतरित किया गया है।** इस प्रकार प्राप्त पारजीनी पौधों में इस एन्जाइम की क्रिया बहुत ही कम थी। इसके साथ ही, इनके तेल में स्टिएरिक अम्ल (stearic acid) का अंश 2 प्रतिशत से बढ़कर 40 प्रतिशत हो गया, और ओलेइक (oleic) अम्ल का अंश घट गया।

इस प्रकार के परिवर्तनों का उद्देश्य अब तक केवल कोको बटर (cocoa butter) से प्राप्त होने वाले संतृप्त वसीय अम्लों की अन्य स्रोतों से प्राप्ति है।

परागकणों के परिपक्वन के लिए फ्लैवोनाएड (flavonoid) अनिवार्य होते हैं। चैल्कोन सिंथेस (chalcone synthase, CHS) फ्लैवोनाएड संश्लेषण का मुख्य एन्जाइम है। CHS जीन की प्रति-अर्थक रचना को पिट्यूनिया (Petunia) में स्थानांतरित किया गया। इन पारजीनी पौधों में CHS की क्रिया नगण्य थी, उनके फूल सफेद तथा परागकण निष्क्रिय थे; अतः ये पौधे नर बंध्य थे।

यह नर बंध्यता(male sterility) प्रभावी (dominant) होती है, अतः सामान्य पौधों से संकरण करने से प्राप्त संततियां भी नर बंध्य होती हैं। इस कारण, इस नर बंध्य पद्धति के व्यावहारिक उपयोग के लिए सुविधाजनक एवं सस्ती पुनःस्थापन विधि का विकास करना एक अनिवार्य आवश्यकता है।

पौधों में अभिव्यक्त (expressed) कुछ पारजीन (transgene) जो मूल्यवान एवं उपयोगी पालीपेप्टाइड/प्रोटीन कोडित करते हैं।

पालीपेप्टाइड	जीन स्रोत	पौधे में अभिव्यक्त	अनुप्रयोग (Applications)	टिप्पणी (Remarks)
हिरुडिन (Hirudin)	संश्लिष्ट	ब्रै. नेपस	थ्राम्बिन (thrombin) निरोधक	व्यापारिक उत्पादन ओलेसिन जीन के साथ संगलित (fused)
प्रतिरक्षी (antibodies IgG, IgM, काइमेरीय, एकल श्रृंखला, आदि)	मूषक (mouse)	-	कई	निष्कर्षणीय (extractable) प्रोटीन का 2 प्रतिशत तक अभिव्यक्त
α-ट्राइकोसैथिन (α-Trichosanthin)	चीनी औषधीय पौधा	-	HIV प्रतिकृति (replication) निरोधक	उच्च अभिव्यक्ति
इंटरफेरान (Interferon)	मानव	-	प्रति-वाइरस (antiviral) क्रिया	
एन्जाइम (Enzyme)				
α-एमाइलेस (α-amylase)	बैसिलस लिकेनीफार्मिस (B. licheniformis)	-	स्टार्च द्रवण (liquefaction)	औद्योगिक उपयोग
(1-3, 1-4) β-ग्लुकैनेस (glucanase)	ट्राइकोडर्मा रीसेई (Trichoderma-reesei)	-	निःसवन (brewing)	औद्योगिक उपयोग
β(1, 4) जाइलैनेस (xylanase)	क्लास्ट्रीडियम (Clostridium)	तंबाकू, कैनोला	पशु आहार, कागज एवं लुगदी	औद्योगिक उपयोग
शोध अभिकर्मक (Research Reagent)				
ऐविडिन (Avidin)*	कुक्कुट	मक्का	शोध	सिग्मा (Sigma), सं. रां. अ. द्वारा विपणित
β-ग्लुकयूरोकिडेस (β-glucuronidose)	ई. कोली	मक्का	शोध	सिग्मा, सं. रा. अ. द्वारा विपणित

* मुर्गी के अण्डे से प्राप्त एविडिन की लागत का पचासवाँ हिस्सा।

पौधों में जीन स्थानांतरण में समस्याएँ

1. पारजीनों की अभिव्यक्ति का निम्न स्तर: यह समस्या अधिकांश पारजीनों में पाई जाती है। इसके निम्नलिखित कारण हो सकते हैं:

(1) कम क्रियाशील प्रमोटर,
(2) पारजीन की अधिक लंबाई,
(3) पारजीन में ऐसे कोडानों की उपस्थिति, जिनका पौधों में बहुत कम उपयोग होता है,
(4) जिनोम में पारजीन के समाकलन स्थल का जीन अभिव्यक्ति के लिये उपयुक्त न होना, आदि।

उदाहरणार्थ, बै. थुरिंजिएसिस के संपूर्ण लंबाई वाले cry जीन को स्थानांतरित करने पर इसकी अभिव्यक्ति इतनी कम थी कि पारजीनी पौधों को खाने वाले केवल लक्ष्य कीट के लार्वा में से केवल 20 प्रतिशत ही मर सके। किंतु जब cry जीन के छोटे या रुंडित (truncated) रूप का स्थानांतरण किया गया, तो इसकी अभिव्यक्ति बढ़कर पत्तियों में उपस्थित घुलनशील प्रोटीन का 0.04 प्रतिशत तक हो गई। cry जीन के इस छोटे संस्करण का कोडन क्रम सुधारने पर जीन अभिव्यक्ति 100-गुना और बढ़ गई।

2. जीन निःस्वरण (Gene Silencing):

- कई पारजीनों की पौधों में अभिव्यक्ति निरोधित (suppress) हो जाती है; इसे जीन निःस्वरण (gene silencing) कहते हैं।
- जीन निःस्वरण में बहुधा प्रमोटरों तथा/या कोडन क्रमों का मेथिलीकरण (methylation) होता है, और पारजीन की एक से अधिक प्रतियाँ समाकलित होने पर इसकी संभावना बढ़ जाती है।
- निःस्वरण अनुलेखन (transcription) की दर अथवा RNA अनुलेखों के विघटन (degradation) को प्रभावित करता है। इसे कम करने की कई कारगर युक्तियाँ हैं।

3. पारजीनी पौधों में अवांछनीय लक्षण:

- बहुत से पारजीनी पौधों में ऊतकक्षय (necrosis), कम वृद्धि, बंध्यता, आदि जैसे अवांछनीय लक्षण भी पाए जाते हैं। इन समस्याओं के कई कारण हो सकते हैं, जैसे पारजीन का किसी अनिवार्य जीन के भीतर समाकलित होना, पारजीन द्वारा कोडित एन्जाइम का कोशिका के गलत प्रकोष्ठ (compartment) में उपस्थित होना, आदि।
- इन समस्याओं के निराकरण के लिए उपयुक्त युक्तियाँ उपलब्ध हैं। किसी अनिवार्य जीन के बीच में समाकलन से उत्पन्न होने वाले अवांछनीय लक्षणों वाले पौधों से छुटकारा पाने का एक कारगर उपाय निम्नलिखित है।
- अलग-अलग रूपांतरणों से प्राप्त बहुत से पारजीनी पौधों का उत्पादन करके उनका मूल्यांकन करना चाहिए, और उनमें से अच्छे लक्षणों वाली पारजीनी लाइन को चुनना चाहिये।

4. रूपांतरण (Transformation) की निम्न आवृत्ति: अधिकांश विधियों से प्राप्त रूपांतरणों की आवृत्ति काफी कम होती है, अथवा इन विधियों के उपयोग के लिए वैज्ञानिकों को दक्ष होना चाहिए अथवा पौधों में पुनर्जनन विधियों (regeneration protocols) को उपलब्ध होना चाहिए।

5. यादृच्छिक (random) समाकलन: पौधों में साधारणतया पारजीनों का यादृच्छिक समाकलन होता है। इस कारण पारजीनों का समाकलन वांछनीय जीनों के भीतर भी हो सकता है। इसके साथ ही, एक जिनोम में पारजीनों की एक से अधिक प्रतियों का समाकलन हो सकता है, जिससे जीन निःस्वरण की संभावनाएँ बढ़ जाती हैं। पौधों में पारजीनों के लक्ष्यबद्ध समाकलन के प्रयास जारी हैं।

***6. ऐग्रोबैक्टीरियम द्वारा संदूषण (Contamination)*:** ऐग्रोबैक्टीरियम द्वारा जीन स्थानांतरण विधि से प्राप्त पौधों में ऐग्रोबैक्टीरियम कोशिकाएँ जीवित बची रह सकती हैं। इस कारण वास्तविक पारजीनी पौधों की पहचान में समस्या होती है। इसी प्रकार की समस्या सीधे जीन स्थानांतरण विधियों में भी हो सकती है। किंतु इन समस्याओं से निपटने की विशिष्ट एवं दक्ष युक्तियाँ उपलब्ध हैं।

व्यापारिक कृषि के लिये अनुमति प्राप्त कुछ चुनी हुई पारजीनी किस्में

फसलें	पारजीनी किस्म	पारजीन द्वारा उत्पादित लक्षण	अनुमति मिलने का वर्ष
कैनोला (Canola)	लारिकाल	तेल में उच्च लारिक अम्ल अंश	1995
	राउण्डअप रेडी	ग्लाएफोसेट (शाकनाशी) रोधिता	1999
मक्का	यील्डगार्ड	यूरोपीय मक्का छेदक रोधिता (cry जीन)	1995
मधुर मक्का (sweet corn)	नाकआउट	योरोपीय मक्का छेदक रोधिता (cry जीन)	1995
कपास	बोलगार्ड	गोलक शलभ (boll worm) एवं तंबाकू बडवर्म (budworm) रोधिता (cry जीन)	1995
	BXN कपास	ब्रोमाक्सिनिल (bromoxynil) शाकनाशी रोधिता	1995
पपीता	सनअप, रेनबो	पपीता रिंग स्पॉट वाइरस	1997
आलू	न्यूलीफ	कोलोराडो आलू भृग (beetle) रोधिता	1995
	न्यूलीफ Y	कोलोराडो आलू भृग एवं आलू पर्णबेल्लन वाइरस रोधिता	1999
सोयाबीन	फ्रीडम	वाइरस रोधिता	**1995**
	राउंडअप रेडी	ग्लाएफोसेट (शाकनाशी) रोधिता	**1995**
टमाटर	एन्डलेस समर	धीमी गति से फल पकना	**1995**
	फ्लेवर सेवर*	फलों का लंबी अवधि तक न गलना	**1994**
स्क्वैश	फ्रीडम II	वाइरस रोधिता	**1995**
चुकंदर	अज्ञात	ग्लुफोसिनेट (glufosinate; शाकनाशी) रोधिता	**2000**

Transgenic crops approved for commercial use

Product	**Genetically altered traits**	**Company**	**Year of approval and product name**
Flavor savr Tomato	Delayed ripening	Calgene	1994, Flavar Savr
Cotton	Bt gene incorporated plants	Monsanto	1995 Bollgard
	Resistant to glyphosate	Calgene	1996, Round up

Aadhar Institute iguruji

	Resistant to Sulphomoyl urea	Dupont	1996
Soybean	Resistant to glyphosate	Monsanto	1995, Round up Ready
	Bt gene incorporated	Ciba-Geigy	1996
	Resistant to glufosinate	Devalb, Agro Evo	1996, Liberty Link
Maize	Male sterility	Plant Genetic Sys	1996
	Bt gene incorporated	Novartis	1996 Yield Gard
Rapeseed	Altered oil composition	Calgene	1995. Laurical
Canola	(high lauric acid)		
Squash	Resistant to virus	Asgrow	1995. Freedom

cry जीन

बै. थुरिन्जिएन्सिस का योरोप में कुछ कीटों के नियंत्रण के लिए प्रथम विश्व युद्ध के समय से ही उपयोग हो रहा था।

इसकी कीटनाशी क्रिया इसके बीजाणुओं (spores) में उपस्थित क्रिस्टल प्रोटीन (crystal protein) के कारण होती है, जिसे इसका cry जीन कोडित करता है।

अब तक cry जीनों के 18 से अधिक विकल्पी ज्ञात हो चुके हैं **प्रत्येक विकल्पी एक भिन्न कीटनाशी गुणधर्म वाला प्रोटीन कोडित करता है।**

- **Cry प्रोटीन कीटों की मध्यआंत्र (midgut) के क्षारीय वातावरण में घुल जाते हैं, और फिर इन्हें प्रोटिएस विदलित (cleave) करता है। विदलन के बाद 60 kDa का आविष खंड (toxin fragment) प्राप्त होता है। अतः Cry प्रोटीन वस्तुतः पूर्वआविष (protoxin) होते हैं, जिनके प्रोटीन लयन (proteolysis) से आविष उत्पन्न होता है।**

बैसिलस थुरिंजिएंसिस (Bacillus thuringiensis) द्वारा उत्पादित Cry प्रोटीन एवं उन्हें कोडित करने वाले cry जीन

जीन	**लक्ष्य कीट**
Cry IA-E	लेपिडाप्टेरा (Lepidoptera)
Cry IIA-B	डिप्टेरा (Diptera)
Cry IIIA-C	कोलिओप्टेरा (Coleoptera)
Cry IVA -D	**डिप्टेरा**
Cry V	निमैटोड
Cry VI	निमैटोड

Aadhar Institute iguruji