

जीन एडिटिंग: फ़सल सुधार का आधुनिक तरीका



**उपासना मिश्रा¹,
डॉ सुहाना पुरी गोस्वामी²,
डॉ शैलजा चौहान³**

¹आनुवंशिकी एवं पादप प्रजनन विभाग, राजमाता विजयाराजे सिंधिया कृषि विश्वविद्यालय, ग्वालियर, मध्य प्रदेश

²सहायक प्राध्यापक, मृदा विज्ञान और कृषि रसायन विज्ञान, बनारस हिंदू विश्वविद्यालय, वाराणसी, उत्तर प्रदेश

³आनुवंशिकी एवं पादप प्रजनन विभाग, पीएच.डी. स्कॉलर, कृषि विज्ञान विश्वविद्यालय, बेंगलुरु, कर्नाटक

***अनुरूपी लेखक**

उपासना मिश्रा*

वैश्विक खाद्य सुरक्षा के लिए कृषि आवश्यक है, और बढ़ती आबादी की मांगों को पूरा करने के लिए फसल उत्पादकता और गुणवत्ता में सुधार लाने में पादप प्रजनन की महत्वपूर्ण भूमिका है। क्रॉस-ब्रीडिंग और म्यूटेशन ब्रीडिंग जैसी पारंपरिक प्रजनन विधियों ने प्रत्यक्ष लक्षणों का चयन करके उपज, रोग प्रतिरोधक क्षमता और गुणवत्ता जैसे गुणों को सफलतापूर्वक बढ़ाया है। हालांकि, ये विधियां समय लेने वाली हैं और प्राकृतिक रूप से मौजूद आनुवंशिक भिन्नता पर निर्भर करती हैं। इन सीमाओं को दूर करने के लिए, मार्कर असिस्टेड सिलेक्शन या मार्कर एडेड सिलेक्शन (MAS), जीनोमिक सिलेक्शन, ट्रांसजेनिक प्रजनन और जीनोम संपादन (Genome editing) सहित आधुनिक प्रजनन तकनीकों का विकास किया गया है। ये दृष्टिकोण बेहतर फसल किस्मों के विकास में सटीकता, दक्षता और गति बढ़ाने के लिए आनुवंशिक जानकारी का उपयोग करते हैं। इनमें से, मार्कर-सहायता प्राप्त चयन आनुवंशिक मार्करों का उपयोग करके सटीक लक्षण चयन को सक्षम बनाता है, जबकि जीनोम संपादन बाहरी डीएनए को शामिल किए बिना लक्षित आनुवंशिक संशोधन प्रदान करता है, जिससे यह अधिक प्रभावी और कारगर तरीका बन जाता है।

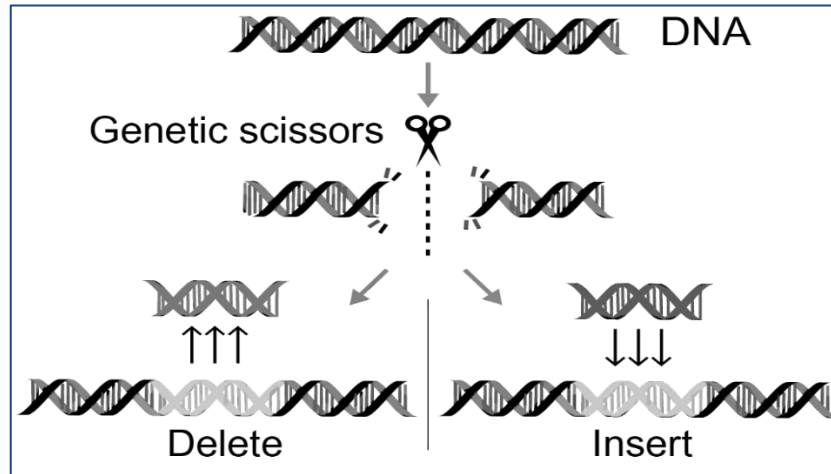
जीनोम संपादन (Genome editing) : जीन संपादन (Genome Editing) एक उन्नत जैव-प्रौद्योगिकी तकनीक है, जो डीएनए के विशिष्ट लक्षित स्थानों पर सटीक परिवर्तन करने की अनुमति देती है। इस प्रक्रिया में विशेष एंजाइम आणविक कैंची (molecular scissors/Genetic scissors) की तरह कार्य करते हैं और डीएनए को निर्धारित स्थान पर काटते हैं। इसके पश्चात उस स्थान पर आवश्यकतानुसार डीएनए अनुक्रमों को हटाया (Delete), जोड़ा (Insert) या प्रतिस्थापित किया जा सकता है।

पिछले तीन दशकों में जीन संपादन की अनेक तकनीकों का विकास हुआ है, जिनमें CRISPR-Cas9 प्रणाली सबसे अधिक प्रभावी, सरल

और व्यापक रूप से प्रयुक्त तकनीक मानी जाती है। यह प्रणाली बैक्टीरिया में वायरस (बैक्टीरियोफेज) के विरुद्ध कार्य करने वाले प्राकृतिक प्रतिरक्षा तंत्र से विकसित की गई है। जब कोई वायरस जीवाणु कोशिका को संक्रमित करता है, तब उसके आनुवंशिक पदार्थ का एक छोटा भाग जीवाणु जीनोम के CRISPR /क्रिस्पर (क्लस्टर्ड रेगुलरली इंटरस्पेस्ड शॉर्ट पैलिंगड्रोमिक रिपीट्स) लोकस में संग्रहीत हो जाता है। यह संग्रहीत अनुक्रम जीवाणु को उस वायरस की "आनुवंशिक स्मृति" प्रदान करता है। पुनः संक्रमण की स्थिति में जीवाणु इसी संग्रहीत अनुक्रम के आधार पर गाइड आरएनए (guide RNA; gRNA) का निर्माण करता है, जो आक्रमणकारी वायरस के डीएनए के पूरक अनुक्रम

से विशिष्ट रूप से जुड़ जाता है। इसके पश्चात Cas9 न्यूक्लीएस प्रोटीन उस लक्षित स्थान पर डीएनए में द्वि-श्रृंखला विच्छेदन (double-strand break) उत्पन्न करता है। इस प्रकार, गाइड आरएनए लक्ष्य

की पहचान सुनिश्चित करता है, जबकि Cas9 प्रोटीन डीएनए को काटने का कार्य करता है; यही दोनों CRISPR-Cas9 प्रणाली के प्रमुख घटक हैं।



चित्र 1: जीनोम एडिटिंग की प्रक्रिया।

जीन संपादन में Cas9 की यही लक्षित डीएनए-कटाई क्षमता अन्य जीवों के जीनोम में भी उपयोग की जाती है। लक्षित स्थान पर डीएनए में द्वि-श्रृंखला विच्छेदन होने के बाद कोशिका अपनी प्राकृतिक डीएनए मरम्मत प्रणाली के माध्यम से इस क्षति की मरम्मत करती है। यह मरम्मत मुख्यतः दो प्रमुख मार्गों से होती है। पहला, नॉन-होमोलॉगस एंड जॉइनिंग (Non-Homologous End Joining; NHEJ), जिसमें डीएनए के टूटे हुए सिरो को सीधे जोड़ दिया जाता है। यह प्रक्रिया अपेक्षाकृत त्रुटिपूर्ण होती है तथा इसके परिणामस्वरूप छोटे विलोपन (deletions) या समावेशन (insertions) उत्पन्न हो सकते हैं, जिससे संबंधित जीन का कार्य बाधित हो जाता है। दूसरा मार्ग होमोलॉजी-निर्देशित मरम्मत (Homology-Directed Repair; HDR) है, जिसमें कोशिका एक समरूप डीएनए टेम्पलेट का उपयोग करके टूटे हुए भाग की सटीक मरम्मत करती है। जीन संपादन में वैज्ञानिक इस प्राकृतिक तंत्र का लाभ उठाते हुए कट स्थल पर इच्छित अनुक्रम वाला बाहरी डीएनए टेम्पलेट उपलब्ध कराते हैं, जिसके आधार पर कोशिका लक्षित डीएनए में विशिष्ट

अनुक्रमों का समावेशन, प्रतिस्थापन अथवा संशोधन करती है।

जीन संपादन के प्रकारों की रूपरेखा:

CRISPR-Cas9 के अतिरिक्त, जीन संपादन की प्रमुख तकनीकों में जिंक-फिंगर न्यूक्लीएस (Zinc Finger Nucleases; ZFNs) तथा ट्रांसक्रिप्शन एक्टिवेटर-लाइक इफेक्टर न्यूक्लीएस (Transcription Activator-Like Effector Nucleases; TALENs) शामिल हैं। ये सभी तकनीकें जीनोम के चयनित स्थलों पर लक्षित आनुवंशिक परिवर्तन उत्पन्न करने के लिए न्यूक्लीएस एंजाइमों का उपयोग करती हैं। यद्यपि इनका उद्देश्य विशिष्ट डीएनए अनुक्रमों में संशोधन करना है, तथापि लक्ष्य अनुक्रम की पहचान करने की उनकी कार्यप्रणाली में महत्वपूर्ण अंतर पाया जाता है। CRISPR-Cas9 प्रणाली लक्ष्य डीएनए की पहचान के लिए गाइड आरएनए (guide RNA; gRNA) का उपयोग करती है, जबकि ZFNs और TALENs विशेष रूप से अभिकल्पित (engineered) डीएनए-बाइंडिंग प्रोटीनों—क्रमशः जिंक-फिंगर प्रोटीन तथा TALENs

प्रोटीन—पर आधारित होती हैं। जीन संपादन के क्षेत्र में ZFNs का प्रथम सफल उपयोग वर्ष 2002-03 के दौरान किया गया, जिसके पश्चात वर्ष 2010 में TALEN तथा वर्ष 2013 में CRISPR-Cas9 प्रणाली का विकास हुआ। इसके बाद Cas प्रोटीन के अनेक अन्य प्रकारों की भी पहचान एवं विकास किया गया, जिनसे जीन संपादन प्रौद्योगिकी की क्षमता और अनुप्रयोगों का विस्तार हुआ। ZFNs में प्रयुक्त ज़िंक-फिंगर प्रोटीनों का अभिकल्पन एवं निर्माण अपेक्षाकृत जटिल तथा समय-साध्य होता है, जिसके कारण विभिन्न डीएनए लक्ष्यों के लिए इनका अनुकूलन सीमित हो जाता है। इसके विपरीत, CRISPR-Cas9 प्रणाली अपनी सरल संरचना, कम लागत, उच्च दक्षता तथा उपयोग में सहजता के कारण जीन संपादन के क्षेत्र में एक क्रांतिकारी तकनीक के रूप में स्थापित हुई है।

जीन संपादन के अनुप्रयोग

कृषि क्षेत्र में जीन संपादन (Gene Editing) का उपयोग फसलों की उत्पादकता, पोषण गुणवत्ता, रोग एवं कीट प्रतिरोधक क्षमता तथा जलवायु परिवर्तन के प्रति अनुकूलन क्षमता में सुधार के लिए किया जा रहा है। इस तकनीक के माध्यम से उच्च उपज, सूखा एवं लवणता सहनशीलता, पोषक तत्वों की वृद्धि तथा रासायनिक कीटनाशकों पर निर्भरता में कमी जैसे वांछित गुण विकसित किए जा रहे हैं।

जीन-संपादित फसलें

भारत में जीन संपादन तकनीक के माध्यम से विकसित की गई पहली धान किस्मों में DRR धान 100 (कमला) और पूसा राइस DST1 प्रमुख हैं। DRR धान 100 (कमला) को भारतीय कृषि अनुसंधान परिषद-भारतीय चावल अनुसंधान संस्थान (ICAR-IIRR), हैदराबाद द्वारा विकसित किया गया है, जबकि पूसा राइस DST1 का विकास भारतीय कृषि अनुसंधान परिषद-भारतीय कृषि अनुसंधान संस्थान (ICAR-IARI), नई दिल्ली में किया गया है। इन नई किस्मों में अधिक उत्पादन, जल संरक्षण और बदलती जलवायु परिस्थितियों के

अनुरूप बेहतर अनुकूलन की क्षमता है। इन किस्मों का विकास CRISPR-Cas आधारित जीनोम एडिटिंग तकनीक से किया गया है। इस तकनीक में पौधे के आनुवंशिक पदार्थ (DNA) में सटीक बदलाव किए जाते हैं, लेकिन इसमें किसी बाहरी जीन या विदेशी DNA को शामिल नहीं किया जाता। भारत के जैव-सुरक्षा नियमों के तहत सामान्य फसलों में SDN-1 और SDN-2 श्रेणी की जीनोम एडिटिंग को मंजूरी दी गई है।

वर्ष 2018 में ICAR ने नेशनल एग्रीकल्चरल साइंस फंड के तहत धान की दो प्रमुख किस्मों—सांबा महसूरी (Samba Mahsuri) और MTU 1010—में सुधार के लिए जीनोम एडिटिंग अनुसंधान शुरू किया था। इसी शोध के परिणामस्वरूप ये दो उन्नत किस्में विकसित हुईं, जो कृषि क्षेत्र में कई महत्वपूर्ण बदलाव ला सकती हैं।

इन नई किस्मों की प्रमुख विशेषताएं हैं:

- उत्पादन क्षमता में लगभग 19 प्रतिशत तक वृद्धि।
 - ग्रीनहाउस गैस उत्सर्जन में करीब 20 प्रतिशत तक कमी।
 - सिंचाई जल की लगभग 7,500 मिलियन घन मीटर तक बचत की संभावना।
 - सूखा, लवणता और अन्य जलवायु संबंधी तनावों को सहने की बेहतर क्षमता।
- DRR Rice 100 (कमला) को ICAR-भारतीय धान अनुसंधान संस्थान (ICAR-IIRR), हैदराबाद ने सांबा महसूरी (BPT 5204) से विकसित किया है। इस किस्म का उद्देश्य प्रति बाल (panicle) अधिक दानों का विकास करना है। यह लगभग 130 दिनों में तैयार हो जाती है, जो मूल किस्म की तुलना में करीब 20 दिन कम अवधि है। कम अवधि के कारण इसमें पानी और उर्वरकों की खपत घटती है तथा मीथेन उत्सर्जन में कमी आती है। इसके पौधे की तना मजबूत होती है, जिससे फसल गिरने

की समस्या कम होती है। इसके चावल की गुणवत्ता सांबा महसूरी के समान बनी रहती है।

- दूसरी किस्म पूसा DST राइस 1 को ICAR-भारतीय कृषि अनुसंधान संस्थान (ICAR-IARI), नई दिल्ली ने MTU 1010 किस्म के आधार पर विकसित किया है। यह किस्म लवणीय और क्षारीय मिट्टी में बेहतर प्रदर्शन करती है और ऐसी परिस्थितियों में उत्पादन में लगभग 9.66 प्रतिशत से 30.4 प्रतिशत तक वृद्धि कर सकती है। सामान्य परिस्थितियों में भी इसमें करीब 20 प्रतिशत तक अधिक उत्पादन क्षमता देखी गई है।

इन जीनोम एडिटेड धान किस्मों को देश के कई कृषि क्षेत्रों के लिए विकसित किया गया है, जिनमें आंध्र प्रदेश, तेलंगाना, कर्नाटक, तमिलनाडु, पुडुचेरी, केरल, छत्तीसगढ़, महाराष्ट्र, मध्य प्रदेश, ओडिशा, झारखंड, बिहार, उत्तर प्रदेश और पश्चिम बंगाल जैसे राज्य शामिल हैं। ये किस्में टिकाऊ कृषि, जल संरक्षण और जलवायु परिवर्तन की चुनौतियों से निपटने की दिशा में एक महत्वपूर्ण कदम मानी जा रही हैं।

भारत में जीन संपादन संबंधी विनियामक ढाँचा: भारत में पौधों एवं पशुओं में जीन संपादन से संबंधित गतिविधियों का नियमन मुख्यतः पर्यावरण (संरक्षण) अधिनियम, 1986 तथा इसके अंतर्गत अधिसूचित 1989 के नियमों के माध्यम से किया जाता है। यह विधिक ढाँचा जैव सुरक्षा सुनिश्चित करने के लिए बहु-स्तरीय नियामक व्यवस्था प्रदान करता है। अनुसंधान एवं परीक्षण चरणों के दौरान जैव सुरक्षा की निगरानी का दायित्व आनुवंशिक हेरफेर समीक्षा समिति (Review Committee on Genetic Manipulation—RCGM) पर निहित है, जबकि जीन-संपादित पौधों एवं पशुओं के पर्यावरणीय निर्गमन तथा व्यावसायिक उपयोग के अनुमोदन का दायित्व आनुवंशिक इंजीनियरिंग मूल्यांकन समिति (Genetic Engineering Appraisal Committee—GEAC) द्वारा निभाया जाता है।

इसके अतिरिक्त, जिन जीन-संपादित पौधों में विदेशी डीएनए (Foreign DNA) का समावेश नहीं होता, उन्हें निर्धारित नियामकीय मानदंडों के अधीन पारंपरिक आनुवंशिक रूप से संशोधित जीव (GMO) अनुमोदन प्रक्रिया से छूट प्रदान की गई है।

निष्कर्ष

जीन संपादन तकनीकें कृषि क्षेत्र में फसल सुधार के लिए एक अत्यंत प्रभावशाली एवं संभावनाशील उपकरण के रूप में उभर रही हैं। इनके माध्यम से उच्च उत्पादकता, रोग एवं कीट प्रतिरोधक क्षमता, सूखा और लवणता सहनशीलता, पोषण गुणवत्ता में वृद्धि तथा जलवायु परिवर्तन के अनुकूल फसल किस्मों का विकास संभव हो रहा है। CRISPR-Cas जैसी आधुनिक तकनीकों द्वारा पारंपरिक प्रजनन विधियों की तुलना में अधिक सटीक और कम समय में वांछित कृषि गुणों का समावेश किया जा सकता है।

हालांकि, जीन-संपादित फसलों के व्यापक उपयोग के लिए जैव सुरक्षा, पर्यावरणीय प्रभाव, आनुवंशिक विविधता के संरक्षण तथा किसानों और उपभोक्ताओं की स्वीकार्यता जैसे पहलुओं पर सावधानीपूर्वक विचार आवश्यक है। एक प्रभावी नियामक ढाँचे और वैज्ञानिक मूल्यांकन के माध्यम से जीन संपादन तकनीक को टिकाऊ कृषि, खाद्य सुरक्षा और जलवायु-सहिष्णु कृषि प्रणालियों के विकास के लिए उपयोग किया जा सकता है।

जैव प्रौद्योगिकी एवं आनुवंशिकी संबंधी प्रमुख शब्दावली:

डीऑक्सीराइबोन्यूक्लिक अम्ल (DNA - Deoxyribonucleic Acid):

डीएनए एक आनुवंशिक अणु है, जो अधिकांश जीवों में वंशानुगत सूचनाओं के भंडारण और पीढ़ी-दर-पीढ़ी उनके संचरण के लिए उत्तरदायी होता है। यह जीवों के विकास, कार्यप्रणाली और जैविक विशेषताओं को निर्धारित करने वाली आनुवंशिक जानकारी को संचित करता है।

जीन (Gene): जीन डीएनए का एक विशिष्ट कार्यात्मक खंड है, जो किसी विशेष जैविक लक्षण या प्रोटीन के निर्माण से संबंधित आनुवंशिक सूचना को कूटबद्ध (encode) करता है। यह आनुवंशिकता की मूल इकाई माना जाता है।

जीनोम (Genome): जीनोम किसी जीव, कोशिका या जीवाणु में उपस्थित संपूर्ण आनुवंशिक सामग्री (सम्पूर्ण डीएनए अनुक्रम) का संग्रह है। इसमें जीव की संरचना, विकास और जैविक क्रियाओं को नियंत्रित करने वाली सभी आनुवंशिक सूचनाएँ सम्मिलित होती हैं।

गुणसूत्र (Chromosome): गुणसूत्र डीएनए और प्रोटीन से निर्मित एक संरचनात्मक इकाई है, जिसमें आनुवंशिक सूचनाएँ संगठित रूप में स्थित होती हैं। ये कोशिका के केंद्रक (Nucleus) में पाए जाते हैं

और जीवों में वंशानुगत गुणों के संचरण में महत्वपूर्ण भूमिका निभाते हैं।

युग्मक (Gamete): युग्मक एक विशेष प्रकार की प्रजनन कोशिका है, जिसमें गुणसूत्रों का एकल (अगुणित/हैप्लॉइड) सेट उपस्थित होता है। इसमें सामान्य कोशिकाओं की तुलना में आधे गुणसूत्र होते हैं। नर और मादा युग्मकों के संलयन से निषेचन की प्रक्रिया द्वारा द्विगुणित युग्मनज (Zygote) का निर्माण होता है।

भ्रूण (Embryo): भ्रूण बहुकोशिकीय जीव के प्रारंभिक विकास की अवस्था है, जो निषेचन के पश्चात युग्मनज से विकसित होता है। यह अवस्था अंगों और ऊतकों के निर्माण की प्रारंभिक प्रक्रिया को दर्शाती है तथा आगे चलकर भ्रूण से विकसित होकर पूर्ण विकसित जीव का निर्माण होता है।