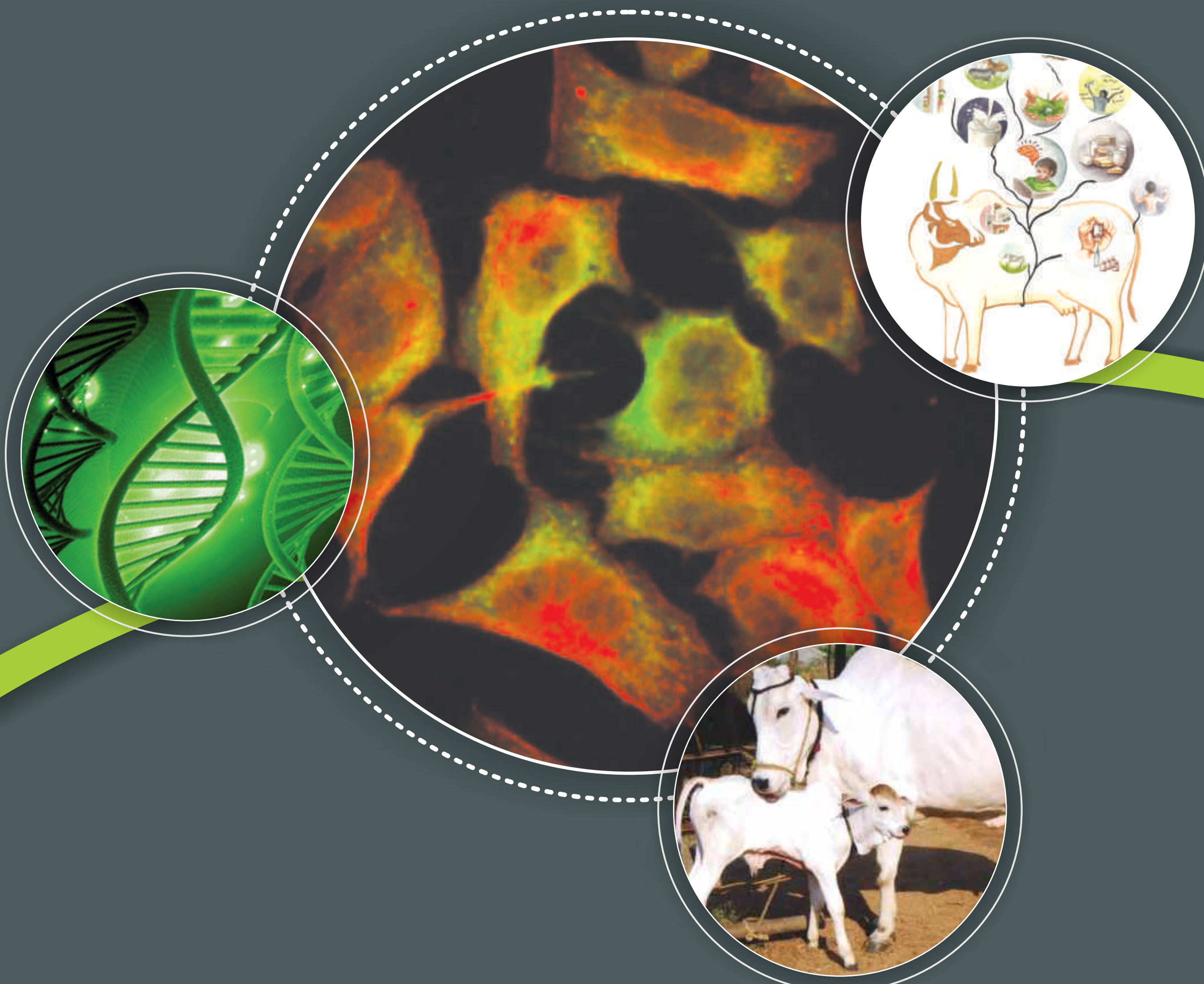
NIAB
National Institute of Animal Biotechnology

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान

National Institute of Animal Biotechnology

(An Autonomous Institute of the Department of Biotechnology, Ministry of Science & Technology, Government of India)



वार्षिक प्रतिवेदन २०१४-१५

ANNUAL REPORT 2014-15

National Institute of Animal Biotechnology

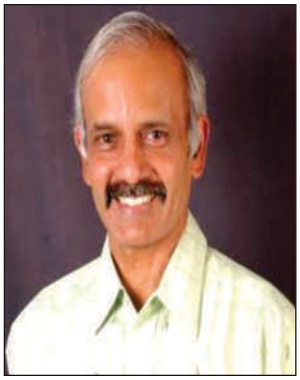
वार्षिक प्रतिवेदन २०१४-१५

ANNUAL REPORT 2014-15

क्रम संख्या	विषय – सूची	पृष्ठ संख्या
1.	**निदेशक की ओर से**	3
2.	**एनआईएबी के उद्देश्य**	5
3.	**एनआईएबी अनुसंधान परियोजनाएं**	6
	क. प्रज्जवलन रोग: इकोसेनॉइड और प्रज्जवलन : शारीरिक और रोग प्रतिक्रियाओं के विनियमन में भूमिका (पी. रेड्डन्ना)	7
	ख. पशु आनुवंशिकी और जीनोमिकी: प्ल्यूरीपोटेंट स्टेम कोशिकाओं का मादा जर्म कोशिकाओं एवं फार्म जंतुओं (भेड़ और भैंस) में ऊसाइट में अवकलन (सतीश कुमार)	15
	ग. संक्रामक रोग	17
	I. बैक्टीरियल रोग	17
	• जूनोटिक रोगाणु, ब्रूसेला की रोगाणुजनक प्रक्रिया को समझना एवं जंतु और मानव ब्रूसेलोसिस के लिए नए टीकों के विकास और नैदानिक आमापन (गिरीश के राधाकृष्णन)	17
	• लेप्टोस्पाइरा संक्रमण की मेजबान प्रतिक्रिया और आण्विक रोगजनन को समझना (सैयद फैसल)	22
	ii. वायरल रोग	26
	• पक्षियों के लिए प्रभावी टीके तैयार करने के लिए न्यू कैसल रोग वायरस संबंधी पोषद रोगजनक अंतःक्रिया अध्ययन (माधुरी सुब्बैया)	26
	• पीपीआर और एफएमडी अनुसंधान (सत्या परिदा)	29
	iii. प्रोटोजोआ रोग	34
	• आण्विक स्तर पर मेजबान – परजीवी – वाहक अंतःक्रियाओं को समझना (आनंद श्रीवास्तव)	34
	• गोयक्ष्मा थिलेरियोसिस में रोगजनन और पोषद परजीवी अंतःक्रिया (परेश शर्मा)	37
	• टॉक्सोप्लाज्मा गॉन्डियाइ में डीएनए प्रतिकृति से संबद्ध कोशिका चक्र नियामकों का लक्षण निर्धारण (अभिजीत देशमुख)	40
	पशु प्रजननः भारतीय पशुधन में बंध्यता का प्रबंधन (सत्या वेलमुरुगन)	44
	जैव सूचना विज्ञानः मार्कर की खोज और तुलनात्मक जीनोमिक्स के लिए अनुक्रम आंकड़ों का विश्लेषण करना (सरवार आजाम)	49

4.	**सहयोगात्मक अनुसंधान परियोजऩाएं**	55
	• दुग्ध स्राव के दौरान पश्चजनन संबंधी विनियमन और दूध जैव संश्लेशण पर इसके प्रभाव पर अध्ययन (श्रीनिवासुलु कुरुकुटी, हैदराबाद विश्वविद्यालय)	55
	• बूबेलाइन मेस्टाइटिस (स्तन की सूजन) में जीवाणु रोगजनकों और साइटोकाइनेस मध्यस्थता स्तन संबंधी ऊतकों के नुकसान का एंटीबायोटिक प्रतिरोध : नियंत्रण में पॉलीफीनॉल्स और एनएसएआईडी की भूमिका (पी. आनंद कुमार, श्री वेंकटेश्वर वेटेनरी यूनिवर्सिटी)	59
	• भारतीय कुक्कुट में टोल लाइक रिसेप्टर – 4 (टीएलआर–4) संकेतक मध्यस्थता जीवाणु रोग प्रतिरोधकता की भूमिका की जांच जैव रसायन विभाग, स्कूल ऑफ लाइफ साइंस, हैदराबाद विश्वविद्यालय और कुक्कुट अनुसंधान निदेशालय, हैदराबाद (जी रवि कुमार, हैदराबाद विश्वविद्यालय)	65
	• लेप्टोस्पायरोसिस की स्क्रीनिंग के लिए प्रतिरक्षा आमापन का विकास और मान्यता (मंजुला श्रीधरण, हैदराबाद विश्वविद्यालय)	68
5.	**प्रकाशन**	71
6.	**एनआईएबी में व्याख्यान, संगोष्ठी / प्रस्तुतियं**	72
7.	**मेजबान–रोगजनक अंतःक्रियाओं पर अंतरराष्ट्रीय सम्मेलन**	78
8.	**एनआईएबी कार्मिकों की विदेशों में प्रतिनियुक्तियां**	80
9.	**सूचना का अधिकार (आरटीआई) अधिनियम, 2015 का कार्यान्वयन**	81
10.	**संगठनात्मक संरचना** एनआईएबी संस्था, एनआईएबी शासी निकाय, एनआईएबी वित्त समिति, वैज्ञानिक सलाहकार समिति, एनआईएबी भवन समिति	82
11.	**तस्वीरें**	89
12.	**लेखापरीक्षक की रिपोर्ट**	91

निदेशक की ओर से



मुझे जैव प्रौद्योगिकी विभाग, विज्ञान और प्रौद्योगिकी मंत्रालय, भारत सरकार सरकार के एक स्वायत्त संस्थान, राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान (एनआईएबी) का वर्ष 2014–15 हेतु वार्षिक प्रतिवेदन प्रस्तुत करते हुए अपार हर्ष है।

मई 2011 में स्थापित एक पंजीकृत संस्थान, एनआईएबी की संकल्पना नवाचारी प्रौद्योगिकियों के माध्यम से पशु स्वास्थ्य तथा उत्पादकता के लिए वैश्विक प्रतिस्पर्द्धी मवेशी उत्पाद, फार्मास्युटिकल और जैविक पदार्थ तैयार करने के लिए की गई है। एनआईएबी की प्रमुख विशेषता यह है कि संस्थान आरंभ होने वाले कंपनियों के लिए एक इंक्यूबेटर की तरह कार्य करेगा और यह देश में बायोटेक उत्पादों के राष्ट्रीय संग्रहालय तथा जैव उद्यमियों को प्रोत्साहन देने के लिए कार्य करेगा।

संस्थान को पशु स्वास्थ्य और उत्पादकता में सुधार लाने के लिए आधुनिकतम क्षेत्रों में अनुसंधान करने और नवीन तथा उभरती हुई जैव प्रौद्योगिकियों के दोहन का अधिदेश प्राप्त है। एनआईएबी में अनुसंधान संक्रामक रोगों, पशु आनुवंशिकी और जीनोमिकी, पशु प्रजनन और जैव सूचना विज्ञान पर केन्द्रित है। पिछले एक वर्ष के दौरान आधुनिकतम मूल संरचना वाली अंतरिम किराए की सुविधा में बीएसएल2 + सुविधा सहित अनुसंधान कार्यक्रम आरंभ किया गया था। एनआईएबी का संकाय समूह बैक्टीरियल (ब्रूसेलोसिस और लेप्टोस्पाइरोसिस), वायरल (एनडी, एफएमडी और पीपीआर) और प्रोटोजोआ (बेबेसियोसिस, थिलेरियोसिस और टोक्सोप्लाज्मोसिस) से भारतीय मवेशियों को होने वाले रोगों पर कार्यरत है। रोगजनकता की प्रक्रिया, आण्विक रोगाणुजनन और मेजबान – रोगाणु अंतःक्रियाओं का अध्ययन दक्ष नैदानिक साधन और नए टीकों के विकास के लक्ष्य के साथ किया जा रहा है। इसके अलावा, पशु प्रजनन के क्षेत्र में मवेशियों में बांझपन को संबोधित करने के लिए अंतःस्रावी विज्ञान के अध्ययन आरंभ किए जा रहे हैं। मार्कर की खोज और तुलनात्मक जीनोमिक अध्ययनों के लिए जैव सूचना विज्ञान के विषय में क्रम विश्लेषण किया जा रहा है। सहयोगात्मक अनुसंधान परियोजनाओं के साथ एंटीबायोटिक प्रतिरोधकता और टीएलआर सिगनलिंग मार्गों जैसे महत्वपूर्ण क्षेत्रों पर फोकस के साथ हैदराबाद विश्वविद्यालय के संकाय सदस्यों के साथ कार्य किया जा रहा है। प्रतिवेदन की अवधि के दौरान निम्नलिखित अनुसंधान कार्यक्रम आरंभ किए गए हैं :

- मवेशियों के विभिन्न रोगों सहित ब्रूसेलोसिस, न्यूकैसल रोग वायरस, पेस्टे–डेस–पेटिट्स रुमीनेंट्स वायरस रोग, पैर और मुंह का रोग, लेप्टोस्पाइरोसिस, थिलेरियोसिस और टोक्सोप्लाज्मोसिस के लिए नए टीकों तथा नैदानिक साधनों का विकास।

- मवेशियों में उर्वरता और उत्पादकता बढ़ाने के लिए प्रजनन जीव विज्ञान में अनुसंधान परियोजनाएं।

- मार्कर की खोज, जीन अंतराल खोज और जैव सूचना विज्ञान साधनों का उपयोग करते हुए मवेशी प्रजातियों के लिए वेब संसाधनों का विकास।

अनुसंधान और विकास गतिविधियों के साथ एनआईएबी में मणिपाल विश्वविद्यालय, मणिपाल और हैदराबाद विश्वविद्यालय के साथ सहयोग में अनुसंधान अध्येता कार्यक्रम (आरएसपी) आरंभ करने के कदम उठाए गए हैं। इसके अलावा एनआईएबी में हैदराबाद विश्वविद्यालय तथा सी आर राव उन्नत गणित, सांख्यिकी एवं कम्प्यूटर विज्ञान संस्थान के सहयोग से मेजबान रोगाणु अंतःक्रिया (आईसीएचपीआई) का राष्ट्रीय सम्मेलन 12 से 15 जुलाई 2014 के बीच आयोजित किया गया। यह सम्मेलन मवेशी और कुक्कुट सहित जूनोटिक संक्रमणों के संबंध में मेजबान – रोगाणु अंतःक्रियाओं के बुनियादी एवं उन्नत अध्ययनों पर केन्द्रित है। आईसीएचपीआई द्वारा मुख्य रूप से वैज्ञानिक, पोस्ट डॉक. छात्रों के लिए मंच का सृजन किया गया जिसमें पशु चिकित्सा स्वास्थ्य के जाने माने लोगों को एक ही छत के नीचे आने और आधुनिकतम अनुसंधान प्राप्तियों को साझा करने के लिए प्रेरित किया गया।

इसी के साथ मुख्य परिसर (लगभग 24000 वर्ग मीटर के निर्मित क्षेत्र सहित बड़े पशुओं के लिए फार्म) राज्य सरकार द्वारा हैदराबाद विश्वविद्यालय के परिसर के साथ एनआईएबी को लगभग 100 एकड़ की भूमि पर बनाने के प्रयास जारी हैं। संविदाकार के चयन के बाद उचित प्रक्रिया का पालन करने के पश्चात निर्माण कार्य मे. इंजीनियरिंग प्रोजेक्ट्स इंडिया लि. (ईपीआईएल), नई दिल्ली, एक सार्वजनिक क्षेत्र उद्यम को प्रयोगशाला कॉम्प्लेक्स, जंतु गृह, जंतु फार्म, छात्रावास और अतिथि गृह कॉम्प्लेक्स निर्मित करने के लिए सौंपा गया है। सभी सांविधिक भुगतान किए गए हैं और सिविक प्राधिकरणों से निर्माण की अनुमतियां प्राप्त करने के लिए औपचारिकताएं पूरी की गई है, अनुमति शीघ्र ही मिल सकती है।

मैं एनआईएबी संस्था, शासी निकाय, वैज्ञानिक सलाहकार समिति, वित्त समिति और भवन समिति तथा जैव प्रौद्योगिकी विभाग की ओर से एनआईएबी की गतिविधियों को आगे बढ़ाने में प्राप्त समर्थन, प्रोत्साहन और सलाह के प्रति हार्दिक आभार व्यक्त करता हूं। डीएनए फिंगरप्रिंटिग और निदान केन्द्र (सीडीएफडी), हैदराबाद विश्वविद्यालय तथा अन्य संसाधनों से प्राप्त अपार समर्थन अत्यंत प्रशंसनीय है। मैं अत्यधिक समर्पित वैज्ञानिक, तकनीकी और प्रशासनिक कर्मचारियों द्वारा एनआईएबी में सीमित संसाधनों के अंदर हमारी चुनौतियों को पूरा करने के लिए योगदान की भी प्रशंसा करता हूं। और अंत में, किन्तु कम महत्वपूर्ण नहीं, मैं प्रो. पी. रेडन्ना द्वारा विशेष कर्तव्यस्थ और संस्थापक निदेशक के रूप में इस संस्थान को दिए गए योगदान और निःस्वार्थ प्रयासों की प्रशंसा करता हूं जो इसके आरंभ से 30 सितम्बर 2014 तक यहां रहे और गतिविधियों के वर्तमान स्तर तक इसका निर्माण किया।

मैं आशा और इच्छा करता हूं कि आने वाले वर्षों में इसी प्रकार समर्थन और प्रोत्साहन जारी रहे ताकि हम अपने सभी प्रयासों में उत्कृष्टता अर्जित कर सकें।

31 मार्च 2015

ज गौरीशंकर

निदेशक प्रभारी

एनआईएबी के उद्देश्य :

- प्रौद्योगिकी और उत्पाद नवीनता की ओर निर्देशित, मूलभूत और अनुप्रयुक्त अनुसंधान शुरू करना। अभिजात वर्ग के जीनोटाइप के गुणन हेतु उत्पादकता; प्रौद्योगिकियों के विकास को बढ़ाने के लिए नस्लों और चयनात्मक प्रजनन की विशेषता। फार्मास्युटिकल मूल्य के अणुओं के उत्पादन के लिए ट्रांसजेनिक जानवरों का विकास। फसल अवशेषों का उच्च मूल्य के उत्पादों में संवर्धन। नई पीढ़ी के टीके, निदान और दवाओं का विकास।

- ट्रांसलेशनल अनुसंधान, औद्योगिक अनुसंधान एवं विकास के लिए प्राथमिक रूप से, मूल्य श्रृंखला में मानव संसाधन का विकास करना; अल्पावधि उन्नत प्रशिक्षण, अंतःविषय विज्ञान, नवाचार और निर्माण के विज्ञान पर ध्यान केन्द्रित करते हुए नए पाठ्यक्रम जैसे एम. एससी / एम. वी एससी–पीएचडी और पीएचडी की शुरूआत की सुविधा।

- पशु जैव प्रौद्योगिकी, पशु जैव–सुरक्षा के मुद्दों और नैतिक मुद्दों के लिए संबंधित राष्ट्रीय नीति तैयार करने के लिए योगदान करना।

- बौद्धिक संपदा संरक्षण, व्यवसाय विकास, प्रौद्योगिकी हस्तांतरण, और शिक्षा–उद्योग भागीदारी को बढ़ावा देना।

- ट्रांसलेशनल अनुसंधान और उत्पाद विकास पर ध्यान देते हुए राष्ट्रीय और अंतरराष्ट्रीय भागीदारों के साथ सहयोगात्मक कार्यक्रम का विकास करना।

- उद्यमियों / स्टार्टअप कंपनियों के लिए इंक्यूबेशन सुविधाएं प्रदान करना।

- (1) उत्पाद नवीनता और ट्रांसलेशनल अनुसंधान पर बल देते हुए बाह्य केन्द्र, (2) कंपनियों के 'अलाभकारी'; और (3) 'लाभकारी' कंपनियों के निर्माण की सुविधा का निर्माण करना।

एनआईएबी अनुसंधान परियोजनाएं

प्रज्जवलन रोग

इकोसेनॉइड और प्रज्जवलन : शारीरिक और रोग प्रतिक्रियाओं के विनियमन में भूमिका

प्रधान अन्वेषक	प्रो. पल्लू रेड्डन्ना	
सदस्य	के. कुमार रेड्डी	वरिष्ठ अनुसंधान एसोसिएट
	डॉ. अपर्णा रचामल्लु	डीएसटी–डब्ल्यूओएस–ए महिला वैज्ञानिक
	डॉ. अनिल कुमार कोठा	एनआईएबी पोस्ट–डॉक्टरल अध्येता
सहयोगकर्ता	डॉ. परेश शर्मा, वैज्ञानिक सी, राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान	
	प्रो. हार्टमुट कुहन, इंस्टीट्यूट ऑफ बायोकैमिस्ट्री, बर्लिन – चैरिटी, बर्लिन, जर्मनी	
	प्रो. एम. रामी रेड्डी, रेशनल लेबोरेटरीज़, सैन डिएगो, यूएसए	
	प्रो. वी. लक्ष्मीपति, अतिथि प्रोफेसर, एनआईपीईआर, हैदराबाद	
	डॉ. अपारॉय, सहायक प्रोफेसर, सेंट्रल यूनिवर्सिटी ऑफ हिमाचल प्रदेश, धर्मशाला	

उद्देश्य

प्रज्जवलन रोगाणु के आक्रमण के विरुद्ध मेजबान की रक्षा का एक मुख्य घटक है और इसे स्थानीय चोट / संक्रमण के प्रति वेस्कुलर ऊतकों की अभिक्रिया के रूप में परिभाषित किया जा सकता है। जबकि, अनियंत्रित प्रज्जवलन कार्डियोवेस्कुलर, श्वसन, तंत्रिका विज्ञान तथा अन्य अनेक जीवनशैली रोगों के साथ जुड़ा है। मवेशियों में प्रज्जवलन के रोगों में बोवाइन श्वसन रोग (बीआरडी), एंडोटॉक्सेमिया जो स्तनग्रंथि (मेस्टाइटिस), प्रजनन मार्ग (मेट्राइटिस), फेंफड़े (निमोनिया) आदि में संक्रमण के परिणामस्वरूप होती है। प्रज्जवलन के मुख्य मध्यस्थों में इकोसेनॉइड जैसे जैव सक्रिय लिपिड शामिल हैं।

इकोसेनॉइड, बहु असंतृप्त वसा अम्ल (पूफा) जैसे एरेकीडोनिक एसिड (एए), शरीर क्रियात्मक (प्रजनन) और रोगाणुजनक (प्रज्जवलन रोग) प्रक्रियाओं में एक मुख्य भूमिका निभाने वाला ऑक्सीजन युक्त चयापचय उत्पाद है। कोशिका स्तर पर झिल्ली के फॉस्फोलिपिड से एरिकडोनिक एसिड (एए) साइक्लोऑक्सीजिनेस (सीओएक्स) और लाइपोक्सीजिनेस (एलओएक्स) मार्गों के जरिए निकलता है और इससे इकोसेनॉइड का निर्माण होता है, जैसे प्रोस्टाग्लेंडिन और ल्यूकोट्राइन्स। हमारे समूह का मौजूदा फोकस शरीर क्रियात्मक तथा रोगाणुजनक प्रक्रियाओं के विनियमन में इकोसेनॉइड सिगनलिंग की भूमिका को समझना है। कुछ जारी अध्ययनों में शामिल हैं :

1) एए मेटाबोलिजिंग एंजाइम, सीओएक्स और एलओएक्स में बंधनकारी स्थल पैटर्न का अन्वेषण।

2) सीओएक्स–2 इंड्यूस्ड इंफ्लेमेशन में गामा डेल्टा टी कोशिकाओं की भूमिका का अध्ययन।

3) डेयरी पशुओं के स्तन की सूजन में चिकित्सकीय प्रयोग के लिए एंटी–इंफ्लेमेटरी प्राकृतिक यौगिकों का मूल्यांकन।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

परियोजना 1 : अरेकिडोनिक एसिड मेटाबोलिजिंग एंजाइम, सीओएक्स और एलओएक्स में बंधनकारी स्थल पैटर्न का अन्वेषण

नॉन–स्टीरॉइडल एंटी इंफ्लेमेटरी औषधि (एनएसएआईडी), गैर विशिष्ट सीओएक्स इंहीबिटर्स और सीओएक्स–2 विशिष्ट इंहीबिटर्स (सीओएक्सआईबी) ऐसी औषधियां है जो मानव और मवेशियों में प्रज्जवलनकारी विकारों के इलाज में उपयोग की जा रही हैं। जबकि एनएसएआईडी और सीओएक्सआईबी दोनों क्रमशः गैस्ट्रिक और कार्डियक दुष्प्रभावों से जुड़े हैं। चूंकि अनेक सीओएक्स और एलओएक्स किस्मों में एए सामान्य सबस्ट्रेट है, सबस्ट्रेट का अन्य मार्गों में मार्ग परिवर्तन होने से एक मार्ग का संदमन होता है, जो कई बार अवांछित दुष्प्रभावों के लिए जिम्मेदार है। अतः न केवल आइसोजाइम विशिष्ट संदमकों के विकास की जरूरत है बल्कि दोहरे / बहु एंजाइम संदमक भी जरूरी हैं। एए की अंतःक्रियाओं को समझने और इन एंजाइमों में इसके बंधन स्थलों के लाक्षणीकरण किए जाते हैं, अतः एंजाइम विशिष्ट और चिकित्सीय दक्षता बढ़ाने और / या दुष्प्रभावों से उबरने के लिए बहु एंजाइम संदमकों का विकास महत्वपूर्ण है। अतः सीओएक्स और एलओएक्स में एए बंधनकारी स्थल एक जैसे होते हैं और इनकी तुलना बहु बंधनकारी का उपयोग करते हुए फार्मेकोफोर आधारित रिसेप्टर के विकास की तुलना में की जाती है। सभी एंजाइमों में बंधनकारी स्थलों के विवरण समझने के लिए भौतिक–रासायनिक गुणों की तुलना की गई और औषधि

डिजाइन के लिए महत्वपूर्ण एमिनो एसिड ज्ञात किए गए जिन्हें लक्षित किया जा सकता है। सात एंजाइमों सीओएक्स–1, सीओएक्स–2, 5–एलओएक्स, 12–एलओएक्स, 15–एलओएक्स और पादप सोयाबीन एलओएक्स–1 और एलओएक्स–3 में एए बंधनकारी स्थलों का एलाइनमेंट किया गया था। यह अभिज्ञात किया गया है कि सीओएक्स में 36 विशेषताएं एए बंधनकारी स्थल पर होती है, बंधनकारी स्थलों में एकमात्र अंतर स्थिति 523 पर सीओएक्स–2 में वीएआई विस्थापन के लिए सीओएक्स–1 में आईएलई था। पिछले अध्ययनों से सुझाव मिला कि एमिनो एसिड में यह छोटा सा बदलाव सीओएक्स–2 बंधनकारी पॉकिट में अतिरिक्त स्थान प्रदान करता है। सल्फोनेमोयल फेनिल या मेथिल सल्फोनिल फेनिल इकाइयों में सीओएक्स आईवी खास तौर पर डायरिल हेटेरोसाइकिल (सेलोकोजिब और रेफेकोजिब) में से केवल साइड पॉकिट में रखकर सीओएक्स–2 की एक्टिव साइट पर समायोजित किया जा सकता है। इससे समर्थन मिलता है कि सामान्य भौतिक रासायनिक पैरामीटरों में एमिनो एसिड के अंतर को अध्ययन करने से विशिष्ट / चयनित संदमकों के विकास में योगदान मिल सकता है।

तुलनात्मक मानव 5–एलओएक्स, 12–एलओएक्स और 15–एलओएक्स अध्ययन में दर्शाया गया है कि इनमें 8 सामान्य विशेषताएं होती हैं, एसीसी में दो सामान्य, एक डीएसी, एक पीआई और चार एएलआई अंतःक्रियात्मक समूह (चित्र 1) होते हैं। यह अपरॉय आदि द्वारा विकसित 5–एलओएक्स के फार्मेको फोर मॉडल पर आधारित लाइगेंड में पिछली रिपोर्ट के सह संबंध है (बायोऑर्ग मेड कैम लेट. 2010; 20 : 1013–18) और चार्लियर आदि (जे मेड कैम 2006; 49 : 186–95), जहां अंतःक्रियाओं के इन चार प्रकारों के महत्व को समझाया गया है। मानव एलओएक्स में 10–15 सामान्य अंतःक्रियात्मक समूहों के चार प्रकार हैं (तालिका 1)। 5 – एलओएक्स में 15–एलओएक्स के साथ 41.92 के अधिकतम समानता अंक और 14 सामान्य विशेषताएं होती है। मानव एलओएक्स में देखा गया एक प्रमुख अंतर यह है कि ग्ल्यू, एमिनो एसिड के साथ अम्लीय श्रृंखला के स्थान पर 5–एलओएक्स में जीएलएन आ गया है। यौगिकों की युक्ति संगत डिजाइन, जिसे जीएलएन की तुलना में ग्ल्यू के साथ अधिक प्रभावी रूप से अंतःक्रिया में शामिल पाया जाएगा। यहां तक कि 15–एलओएक्स में भारी एमिनो एसिड आईएलई 593 के स्थान पर 5–एलओएक्स में छोटा एमिनो एसिड एएलए लाया जाता है। 5–एलओएक्स में संगत स्थान पर एक भारी हाइड्रोफोबिक समूह लाइगैंड में स्थान लेता है। ये अंतर सीओएक्स–2 संदमकों के मामले में विशिष्ट 5–एलओएक्स संदमकों के विकास में लाभ लेने वाले अंतर हो सकते हैं।

सभी एलओएक्स में अलग अलग सीओएक्स–2 की जोड़ावार तुलना में यह देखा गया है कि पादप आइसोफॉर्म की तुलना में सीओएक्स–2 मानव एलओएक्स में अधिक समान हैं। सीओएक्स–2 / 5– एलओएक्स में सीओएक्स–2 / 15–एलओएक्स (तालिका 2) में 12 सामान्य विशेषताओं की तुलना में 15 सामान्य विशेषताएं हैं। सीओएक्स–2 और 5–एलओएक्स की बंधनस्थल पर कम समानता और 15–एलओएक्स के साथ लगभग समान समकक्ष विशेषताओं को दर्शाया गया, जिससे दोहरे संदमकों की डिजाइन संकल्पना अधिक चुनौतीपूर्ण बन गई। सीओएक्स–2 / 5–एलओएक्स मॉडल में सीओएक्स–2 / 15 –एलओएक्स और सीओएक्स–2 / 12–एलओएक्स की तुलना में अधिक पीआई अंतःक्रियाएं (6) सामान्य हैं, अतः 5–एलओएक्स बंधनकारी स्थलों पर एमीनो एसिड टीवायआर 181, पीएचई 359, पीएचई 421, टीआरपी 599 को सुगंधित अंतःक्रियाओं के लिए लक्षित किया जा सकता है, जिससे सीओएक्स–2 / 5–एलओएक्स की ओर विशिष्टता बढ़ सकती है।

सीओएक्स–2 / 5–एलओएक्स मॉडल से पुनः ज्ञात सीओएक्स–2 / 5–एलओएक्स दोहरे संदमक, लाइकोफेलोन (चित्र 2) के साथ डॉकिंग अध्ययनों द्वारा आगे सत्यापित किया गया। लाइकोफेलोन ने उन एमिनो एसिड के साथ अंतःक्रिया दर्शाई जो महत्वपूर्ण पाए गए थे। केवल एक आवेश समूह, लाइकोफेलोन के कार्बोक्सी खण्ड में सामान्य डीएसी विशेषता के साथ अंतःक्रिया की गई (सीओएक्स–2 में टीवायआर 355 और 5–एलओएक्स में एचआईएस 372)। सामान्य एएलआई विशेषता (सीओएक्स–2 में वीएएल 523 और 5–एलओएक्स में एलईयू 368) पर हाइड्रोफोबिक सीआई समूह एलाइन किया गया। लाइकोफेलोन के एरोमेटिक रिंग ने सामान्य पीआईआई विशेषता के साथ मॉडल में सह संबंध के साथ सीओएक्स–2 में टीवायआर 387 और 5–एलओएक्स में पीएचई 421 के साथ सशक्त पीआईआई अंतःक्रिया दर्शाई। डाइमेथिल साइक्लो पेंटेन इकाई द्वारा देखी गई कुछ सामान्य एएलआई विशेषताओं के साथ हाइड्रोफोबिक अंतःक्रियाएं गठित की गई। अतः डॉकिंग परिणामों में दर्शाया गया कि उत्पन्न मॉडल को सामान्य विशेषताएं प्रकट करने में उपयोग किया जा सकता है और इसे दोहरे संदमकों की डिजाइन में पुनः उपयोग किया जा सकता है। वर्तमान मार्ग सुरक्षित है, क्योंकि इसमें अधिक प्रभावी औषधियां होने से बहुत चुने हुए लाइगैंड की डिजाइन बनेगी, जहां अवांछित और संभावित दुष्प्रभावों को हटाया जा सकता है।

सारांश

सीओएक्स और एलओएक्स के सात एंजाइमों में एए बंधनकारी स्थलों का एक पूर्ण विश्लेषण किया गया, सात एंजाइमों

के लिए 120 संयोजन विस्तार से अध्ययन किए गए। सभी सात एंजाइम संरचना की दृष्टि से बहुत अलग है, फिर भी इनमें एए साझा है, क्योंकि ये सामान्य बंधनकारी भागीदार हैं। विभिन्न संयोजनों की तुलना से प्रकट हुआ कि ये एक दूसरे के समान और भिन्न किस प्रकार हैं। यह जानकारी मोनो – डुएल – और बहु एंजाइम विशिष्ट संदमकों के रूप में मददगार होंगे, जिससे दुष्प्रभावों के बिना एंटी इंफ्लेमेटरी दवाओं के विकास के लिए विशिष्ट संदमक बनाए जा सकते हैं।

परियोजना 2 : सीओएक्स–2 इंड्यूस्ड इंफ्लेमेशन में गामा डेल्टा टी कोशिकाओं की भूमिका का अध्ययन

लिम्फोसाइट सबसेट, जिसमें वीगामा9वीलेमडा2 टी–कोशिका अभिव्यक्त होती है, इसे मोटे तौर पर गामा लेमडा टी कोशिका कहते हैं, जो अनेक प्रकार के रोगाणुओं के उत्तर में प्रज्जवलन के स्थान पर संचित हो जाते हैं, जैसे बैक्टीरियल, वायरल और परजीवी संक्रमण और ये विभिन्न साइटोकाइन जैसे आईएफएन– गामा, आईएल – 10 और टीएनएफ – अल्फा के स्राव द्वारा प्रज्जवलनकारी चुनौतियों की मेजबान प्रतिक्रिया के नियमन में एक प्रमुख भूमिका निभाती हैं तथा साइटोटॉक्सिक गतिविधि को लक्ष्य कोशिकाओं की ओर निर्देशित करती हैं। साथ ही ये कोशिकाएं दक्ष कैंसर प्रतिरक्षी उपचार कार्यनीति के विकास में महत्वपूर्ण हैं, जिसमें रूपांतरित कोशिकाओं द्वारा चयन और समापन किया जाता है। प्रतिरक्षी कोशिकाओं की क्षमता के बावजूद, जैसे प्राकृतिक मारक कोशिकाएं (एनके कोशिकाएं) और गामा लेमडा टी कोशिकाएं ट्यूमर कोशिकाओं द्वारा ट्यूमर कोशिकाओं को इंफिल्ट्रेट और मारने का कार्य करते हैं, कई बार इस सूक्ष्म परिवेश में अनेक प्रतिरक्षी मॉड्यूलेटरी अणु उत्पन्न होते हैं जो प्रतिरक्षी कोशिकाओं के कार्यों पर नकारात्मक प्रभाव डालते हैं। प्रोस्टाग्लेंडिन – ई2 (पीजीई2) ट्यूमर कोशिकाओं या उनके आस पास के सूक्ष्म परिवेश द्वारा उत्पन्न ऐसे प्रमुख संदमनकारी कारक हैं। प्रोस्टाग्लेंडिन ई–2 एरेकिडोनिक एसिड के प्रमुख चयापचय से उत्पन्न होता है जो साइक्लोऑक्सीजनेस (सीओएक्स) और प्रोस्टाग्लेंडिन ई सिंथेस नामक दर सीमित करने वाले एंजाइम से प्रभावित होता है। हाल के अध्ययनों में यह स्पष्ट रूप से दर्शाया गया है कि पीजीई2 की अति अभिव्यक्ति से टी कोशिकाओं के साइटोटॉक्सिक गुणों का नियमन होता है।

जबकि पीजीई2 और सीओएक्स–2 द्वारा गामा लेमडा टी कोशिकाओं के इम्युनोमॉड्यूलेशन का नियमन अभी स्पष्ट नहीं है (चित्र 3)। चूंकि सीओएक्स–2 प्रज्जवलन का मुख्य माध्यम है, अतः सीओएक्स–2 चयनित संदमक (सीओएक्सआईबी) का उपयोग प्रज्जवलनकारी विकारों के इलाज में किया जा रहा है। इनके कार्डियक दुष्प्रभावों के परिणामस्वरूप बाजार से सीओएक्सआईबी के कुछ दुष्प्रभाव वापस लिए गए कुछ अब तक उपयोग में हैं। वर्तमान में यह स्पष्ट नहीं है कि क्या ये सीओएक्सआईबी कार्डियक दुष्प्रभावों से संबंध रखते हैं (चित्र 4)। अतः यह जानना महत्वपूर्ण है कि सीओएक्स–2 किस प्रकार नव प्रतिरक्षी प्रणाली के मॉड्यूलेशन में, खास तौर पर गामा लेमडा टी कोशिकाओं की साइटोटॉक्सिक विशेषताएं विशेष रूप से भूमिका निभाती है। इस पृष्ठभूमि के साथ वर्तमान अध्ययन गामा लेमडा टी कोशिकाओं पर सीओएक्स–2 की भूमिका को समझने पर केन्द्रित है।

सारांश

सीडी3 और सीडी3+ एलपीएस सक्रिय कोशिकाओं की तुलना में साइटोकाइन के प्रेरण के अभाव के द्वारा एलपीएस में मूल गामा लेमडा टी कोशिकाओं को सक्रिय नहीं बनाया जा सका। साइटोकाइन अभिव्यक्ति (टीएनएफ–अल्फा और आईएफएन – गामा) केवल सीडी3 और सीडी3 + एलपीएस उपचारित कोशिकाओं के बीच देखी नहीं गई थी। यह या तो सीडी3 या एलपीएस की उच्च सांद्रता के कारण हो सकता है। ये प्राप्तियां संकेत करती है कि सीडी3 और एलपीएस की प्रभावी सांद्रता के मानकीकरण की आवश्यकता है ताकि गामा लेमडा टी कोशिकाओं (चित्र 5) को सक्रिय बनाकर अवकल प्रणाली के साइटोकाइन प्राप्त किए जा सकें। साथ ही इस पर भी अध्ययन किए जाएंगे कि गामा लेमडा टी कोशिकाओं के प्रतिरक्षी प्रत्युत्तर और सक्रिय बनाने को सीओएक्स–2 किस प्रकार नियमन करता है। इन अध्ययनों को सीओएक्स–2 चयापचय उत्पादों / संदमकों के साथ संसेचन या साइलेंसिंग / अति अभिव्यक्ति से लिया जाएगा और इन कोशिकाओं के प्रतिरक्षी प्रत्युत्तर के नियमन का विश्लेषण तथा गामा लेमडा टी कोशिकाओं के विश्लेषण में किया गया है।

परियोजना 3 : डेयरी पशुओं के स्तन की सूजन में चिकित्सकीय प्रयोग के लिए एंटी–एंफ्लेमेटरी प्राकृतिक यौगिकों का मूल्यांकन

स्तनग्रंथि पेरंकाइमा में प्रज्जवलन को स्तन की सूजन कहते हैं, जिसे दूध में भौतिक और रासायनिक बदलावों की रेंज तथा थन के ऊतकों में होने वाले विकृति विज्ञान बदलावों से पहचाना जाता है। दूध में होने वाले उल्लेखनीय बदलाव जिन्हें बोवाइन स्तन की सूजन में देखा जा सकता है, वे हैं दूध में थक्का, दूध का रंग बदलना और बड़ी संख्या में ल्यूकोसाइट। पुनः बोवाइन स्तन की सूजन में क्लिनिकल संकेत दिखाई देते हैं, जैसे थन में सूजन, गर्मी और दर्द। आम तौर पर स्तन की सूजन बैक्टीरियल रोगाणुओं से होती है, एस. ओरियस सबसे सामान्य इटियोलॉजिकल जीव है जो इसके लिए जिम्मेदार है, किन्तु ई. कोलाई, एस. एपिडर्माइटिस और स्ट्रेप्टोकोकस को भी कई बार अलग किया गया है। स्तन की सूजन एक महामारी रोग है और यह कई बार बहुत अधिक संख्या में होता है और सबसे अधिक महंगा रोग है जो दुनिया भर के डेयरी मवेशियों को प्रभावित करता है। भारत में यह दूसरा सबसे महत्वपूर्ण और चुनौती देने वाला रोग है जो एफएमडी के बाद डेयरी पशुओं को प्रभावित करता है। बिकाने और कविटकर (2000) के अनुसार डेयरी मवेशियों में यह सबसे अधिक महत्वपूर्ण रोग है जो दूध उत्पादन में 70 प्रतिशत तक कमी लाता है, इलाज के बाद 9 प्रतिशत दूध हटा दिया जाता है, पशु चिकित्सा सेवाओं की लागत 7 प्रतिशत और समयपूर्व कलिंग का 14 प्रतिशत होता है। स्तन की सूजन के नियंत्रण में अनेक रासायनिक विसंक्रामकों तथा एंटी बायोटिक उपचार का उपयोग शामिल है। एंटीबायोटिक उपचार लगभग 50 वर्षों से स्तन की सूजन पर नियंत्रण में उपयोग किया जाता है। जबकि यह सुझाया गया था कि एंटीबायोटिक उपचार से वास्तव में स्तन सूजन की दर को कम करने में मदद नहीं मिली थी। वास्तव में एंटीबायोटिक के उपयोग से कई समस्याएं उत्पन्न होती है, उदाहरण के लिए एंटीबायोटिक के लिए प्रतिरोधकता, विवादास्पद दवा दक्षता और दूध में एंटीबायोटिक अवशेषों की उपस्थिति। एंटीबायोटिक उपचार के दौरान दूध में एंटीबायोटिक अवशेष मिलने से दूध खपत के लिए अनुपयोगी हो जाता है और इस प्रकार इस दूध को फेंका जाता है। प्राकृतिक दवाएं रोगों के अनेक प्रकार से इलाज करने में लगातार महत्वपूर्ण सिद्ध हुई हैं और उन्हें पादप आधारित दवाओं के लिए खोज करने का शुरूआती बिन्दु पारंपरिक ज्ञान से मिलता है। वर्तमान अध्ययन पूर्व परियोजना में प्राप्त जानकारियों से प्रज्जवलन रोधी यौगिकों को अलग करने और उनकी पहचान के लिए डिजाइन किया गया है तथा स्तन सूजन के इलाज में एंटीबायोटिक के साथ संयोजन में या अकेले इनकी दक्षता का मूल्यांकन किया गया है। परियोजना में औषधीय पौधों से प्राकृतिक यौगिकों को अलग करना और इन पर उनकी दक्षता का मूल्यांकन करना शामिल है (1) अलग किए गए एंजाइम – सीओएक्स–2 और एलओएक्स तथा (2) चूहा माइक्रोफेज सेल लाइन, आरएडब्ल्यू264.7 को पात्रे प्रोइंफ्लेमेटरी एजेंट के साथ उद्दीपित किया जाता है। इन अध्ययनों से स्तन सूजन में संभावित चिकित्सीय उपयोग के लिए प्राकृतिक प्रज्जवलनरोधी यौगिकों की पहचान की गई है।

प्यूरेरिया ट्यूबेरोसा (वन्य) डीसी (फेबेसी) एक बड़ी चढ़ने वाली जड़ी बूटी है जिसे पारंपरिक औषधि में उपयोग किया जाता है। पौधे की कंद जैसी जड़ें स्पर्मेटोजेनेसिस को बढ़ाने, प्रतिरक्षी बूस्टर, एफ्रोडिसियाक, एंटी–इंफ्लेमेटरी एजेंट, कार्डियोटोनिक और मस्तिष्क टोनिक के रूप में इस्तेमाल की जा रही है। इस अध्ययन का लक्ष्य पी. ट्यूबेरोसा डीसी के कंदों से साइक्लोऑक्सीजनेस (सीओएक्स–1 और सीओएक्स–2) और / या 5 – लाइपोऑक्सीजनेस (5–एलओएक्स) संदमकों को अलग करने और उनकी पहचान पर लक्षित है। हवा में सुखाए गए पी. ट्यूबेरोसा के कंदों को पीसा गया, एन–हेक्सेन, एथिल एसिटेट तथा मेथेनॉल के साथ सॉक्सलेट उपकरण के साथ निष्कर्ष निकाला गया। इन निष्कर्षों में सीओएक्स तथा 5 – एलओएक्स के संदमन की छानबीन में स्पेक्ट्रोस्कोपिक / पोलोरोग्राफिक विधियों (तालिका 3) हेतु की गई थी। मेथेनोलिक निष्कर्षों, जिसमें सीओएक्स–2 का संभावित संदमन दर्शाया गया और 5–एलओएक्स का पर्याप्त संदमन देखा गया, इन्हें एन हेक्सेन तथा एन. हेक्सेन – एथिल एसिटेट स्टेप ग्रेडिएंट मिश्रण का उपयोग करते हुए सिलिका जेल कॉलम द्वारा पुनः शुद्ध किया गया। इस प्रकार प्राप्त प्रमुख पीक (पीटी–1, पीटी–2 और पीटी–3) का लाक्षणीकरण एंजाइम संदमन (तालिका 4) और मास स्पेक्ट्रोमेट्री द्वारा संरचनात्मक निर्धारण एवं 2डी – एनएमआर तकनीक सहित एचएसक्यूसी, एमएमबीसी, एनओईएसवाय और ^{1}एच–^{1}एच सीओएसवाय द्वारा किया गया। तीन प्रमुख घटक पीटी–1, पीटी–2 और पीटी–3 को क्रमशः प्यूएरेरिन, आइसोओरिएंटिन और मैग्नीफेरिन के तौर पर पहचाना गया था। इनमें से आइसोओरिएंटिन में 39 माइक्रोग्राम के आईसी$_{50}$ मूल्य के साथ सीओएक्स–2 के खिलाफ संभावित संदमन दर्शाया गया (चित्र 6)। हमने पुनः जीवे एयर पाउच म्यूरिन मॉडल पर आइसोओरिएंटिन के एंटी–इंफ्लेमेटरी प्रभावों का मूल्यांकन किया। विसंक्रमित हवा के 1.5 मि.ली. सबक्यूटेनियस इंजेक्शन से उत्पन्न हवा की गुहाओं को तीन वैकल्पिक दिनों पर जंतु के पृष्ठ की ओर इंट्रा कैप्सूलर क्षेत्र में देखा गया। हवा के शुरूआती इंजेक्शन 0.5 – 1 मि.ली. 1 प्रतिशत (डब्ल्यू / वी) घोल के बाद सेलाइन में घोले गए कैराजिना को सीधे पाउच में डालकर प्रतिरक्षी प्रत्युत्तर उत्पन्न किया गया। जंतुओं को 5 अलग अलग समूहों में बांटा गया। ये हैं : 1. सेलाइन से उपचारित, 2.

काराजिनान (0.5 – 1 मि.ली. 1 प्रतिशत (डब्ल्यू /वी) काराजिनान सेलाइन में), 3. काराजिनान + कंट्रोल औषधि (20 मि. ग्रा. / कि. ग्रा. शरीर का वज़न), 4. काराजिनान + औषधीय यौगिक (10 मि. ग्रा. / कि. ग्रा. शरीर का वज़न) और 5. काराजिनान + औषधीय यौगिक (20 मि. ग्रा. / कि. ग्रा. शरीर का वज़न)। आइसोओरिएंटिन का उपयोग करते हुए ये जीवे अध्ययन वर्तमान में प्रगति पर हैं।

प्रकाशन :

1 रेड्डी के के, विद्या राजन वी के, गुप्ता ए, अपरॉय पी और रेड्डाना पी (2015). एक्सप्लोरेशन ऑफ बाइंडिंग साइट पैटर्न इन एरेकिडोनिक एसिड मेटाबॉलिज्म एंजाइम्स, साइलोऑक्सीजनेस एंड लिपोक्सीजीनेसिस। **बीएमसी रेस नोट्स** 8 :152.

2 लता टी एस, रेड्डी एम सी, दुरबाका पी वी, रचामल्लु ए, रेड्डाना पी और लोमडा डी (2014). γβ टी सेल– मीडियाटिड इम्यूनो रिस्पोंसिस इन डिजीज एंड थैरेपी। **फ्रंट इम्यूनोल** 5 : 571.

3 किल्लूबाई एम, रचामल्लु ए, येगोनी डी पी और सुब्रामणियम आर (2015). कम्परेटिव बाइंडिंग मैकेनिज्म ऑफ ल्यूपियोल कंपाउंड्स विद प्लाज्मा प्रोटीन्स एंड इट्स फर्माकोलॉजिकल इम्पोर्टेंस। **मॉल बायोसाइस्ट** 11:1172–1183.

तालिका 1 : मल्टीबैंड का उपयोग करके अन्य एलओएक्स के साथ 5–एलओएक्स बंधनकारी स्थल के जोड़ेवार संरेखण

तुलना में प्रोटीन	दोषपूर्ण विशेषताओं की संख्या	अंक
5-LOX– 12-LOX	10	32.6815
5-LOX– 15-LOX	12	41.8927
5-LOX– LOX-1	8	19.6051
5-LOX– LOX-3	11	35.3228

तालिका 2 : सभी 6 एंजाइमों के साथ सीओएक्स–2 बंधनकारी स्थल के जोड़ेवार संरेखण पर मल्टीबैंड डेटा

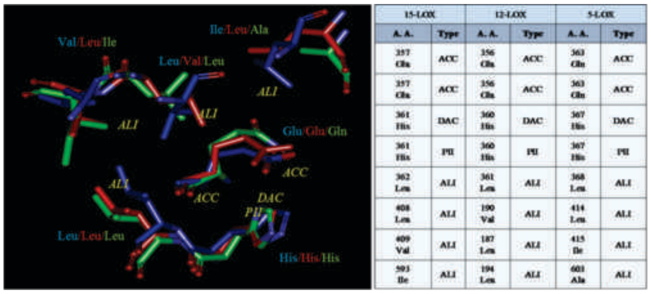
तुलना में प्रोटीन	दोषपूर्ण विशेषताओं की संख्या	अंक
COX-2 – COX-1	36	90.4106
COX-2 – 5-LOX	15	33.4303
COX-2 – 12-LOX	10	32.6815
COX-2 – 15-LOX	12	41.8927
COX-2 – LOX-1	8	19.6051
COX-2 – LOX-3	11	35.3228

तालिका 3 : 100 माइक्रो ग्राम / मि. ली. कॉन में सीओएक्स–1, सीओएक्स–2 और 5–एलओएक्स की तुलना में पी. ट्यूबेरोसा के विभिन्न निष्कर्षों के प्रतिशतता निषेध

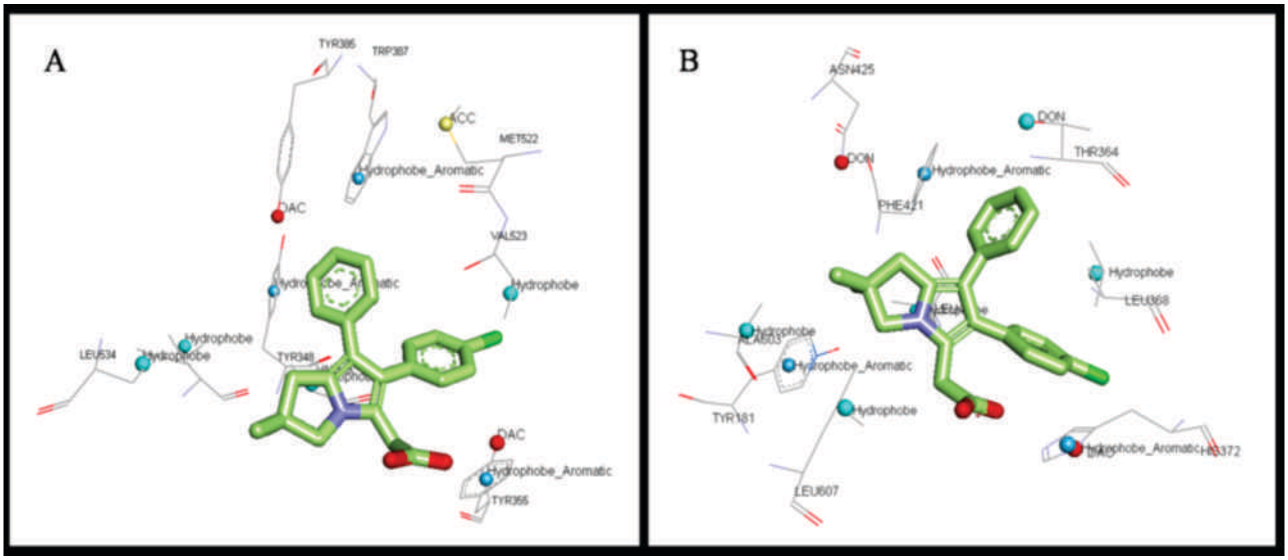
निष्कर्ष	सीओएक्स–1	सीओएक्स–2	5–एलओएक्स
हेक्सेन	6.43	11.23	-
एथिल एसीटेट	15.25	87.97	5.25
मेथेनॉल	26.79	91.94	22.65

तालिका 4 : 100 माइक्रो ग्राम में सीओएक्स–1, सीओएक्स–2 और 5–एलओएक्स की तुलना में प्यूरेरिन (पीटी–1), आइसोरिएनेटिन (टीटी–2) और मैंजीफेरिन (पीटी–3) का प्रतिशतता निषेध

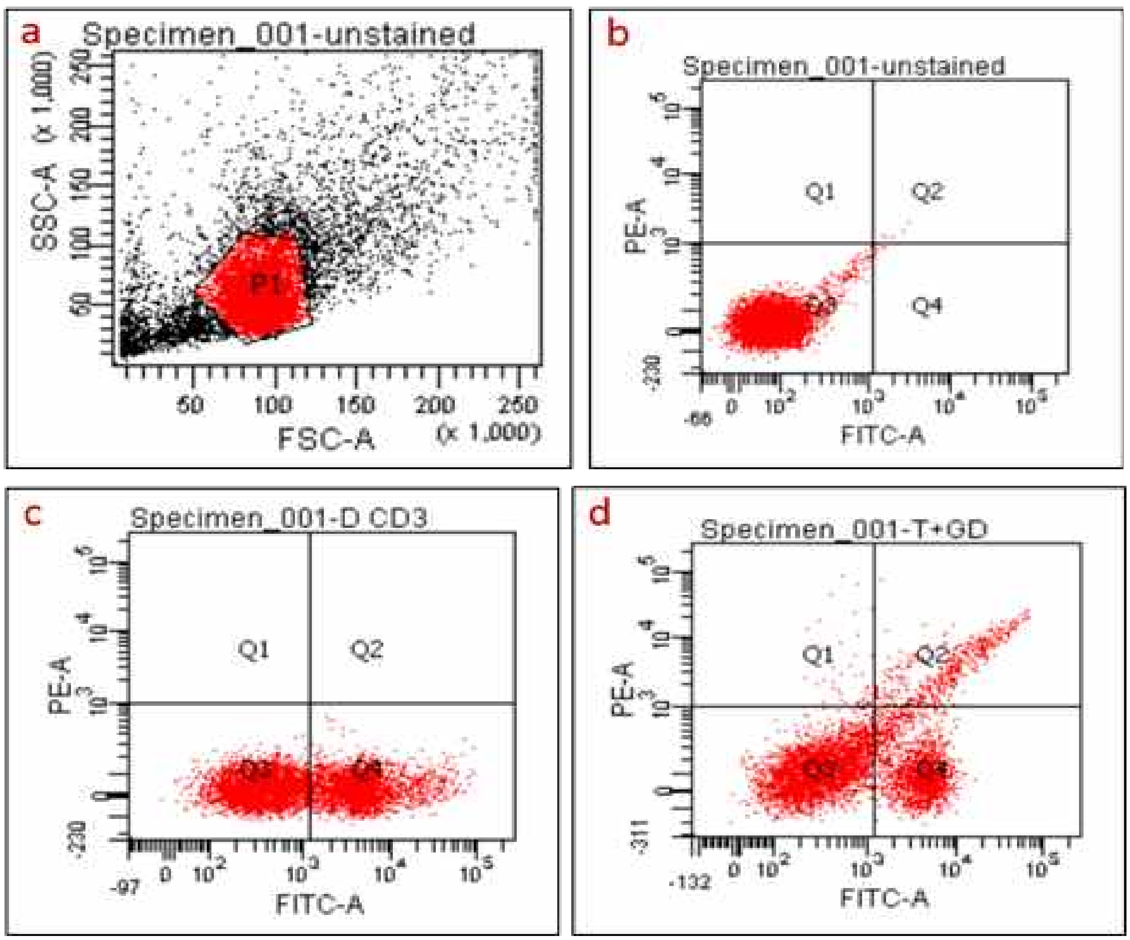
यौगिक	सीओएक्स–1	सीओएक्स–2	5–एलओएक्स
पीटी–1	1.55	-	10
पीटी–2	-	63.96	14
पीटी–3	79.4	45.94	5
इंडोमेथेसिन	100	-	-
सेलेकॉक्सिब	-	100	-
एनडीजीए	-	-	100



चित्र 1 : 5–एलओएक्स, 12–एलओएक्स और 15–एलओएक्स के लिए सामान्य भौतिक रसायन मापदंडों की पहचान। सामान्य गुणों में योगदान देने वाले 5–एलओएक्स (हरा), 12–एलओएक्स (लाल) और 15–एलओएक्स (नीला) एमिनो एसिड दर्शाए गए हैं।



चित्र 2 : क) सीओएक्स–2 और ख) 5–एलओएक्स के बंधनकारी स्थल में लाइकोफेनोल

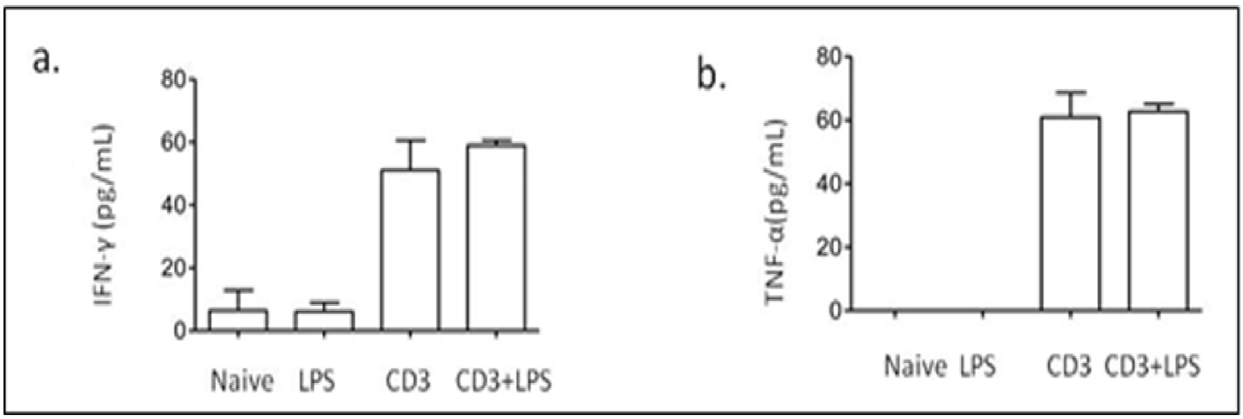


चित्र 3 : γδ टी कोशिकाओं का फ्लो साइटोमेरिक विश्लेषण। सीडी3एफआईटीसी और – γδ पीई एंटीबॉडी के लिए क) स्प्लीनोसाइट्स का मार्ग, ख) अस्थिर नियंत्रण कोशिका, ग) सीडी3–एफआईटीसी एंटीबॉडी के साथ टी कोशिका चिन्हित, दोहरी सकारात्मक कोशिका। क्यू3 : अस्थिर कोशिका, क्यू4 : सीडी3एफआईटीसी सकारात्मक कोशिका, क्यू2 : सीडी3एफआईटीसी और क्यू1 : γδ पीई सकारात्मक कोशिका।

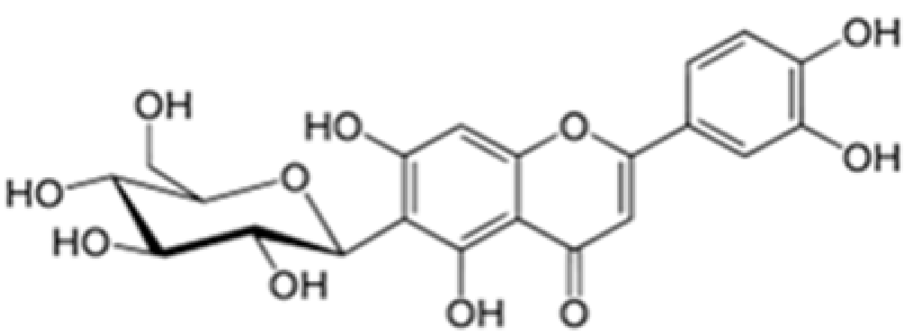
Experiment Name:	Experiment_026
Specimen Name:	Specimen_001
Tube Name:	C+GD
Record Date:	Feb 27, 2015 11:43:23 AM
$OP:	Administrator
GUID:	31fb2aed-52d1-42c7-9c8f-d1bf4bd7783c

Population	#Events	%Parent	%Grand P...	FITC-A Mean	PE-A Mean
P1	6,665	66.6	####	1,223	894
Q1	83	1.2	0.8	579	15,477
Q2	560	8.4	5.6	8,548	7,031
Q3	5,538	83.1	55.4	339	101
Q4	484	7.3	4.8	2,966	371
P2	727	10.9	7.3	7,905	4,846
P3	688	10.3	6.9	7,179	7,653

चित्र 4 : सीडी3एफआईटीसी और – γδ पीई एंटीबॉडी के लिए प्रत्येक क्वेड्रेंट में दिखाए गए सकारात्मक कोशिकाओं का प्रतिशत। क्यू3 : अस्थिर कोशिका, क्यू4 : सीडी3 एफआईटीसी सकारात्मक कोशिका और γδ पीई सकारात्मक कोशिका (दोहरा सकारात्मक)।



चित्र 5 : नेव, सीडी3 और एलपीएस एक्टिवेटिड γδ टी कोशिकाओं में टीएनएफ– γ और टीएनएफ– α का परिमाणन।



चित्र 6 : आइसोरिएंटिन की आण्विक संरचना

पशु आनुवंशिकी और जीनोमिकी

प्ल्यूरीपोटेंट स्टेम कोशिकाओं का मादा जर्म कोशिकाओं एवं फार्म जंतुओं (भेड़ और भैंस) में ऊसाइट में अवकलन

प्रधान अन्वेषक :	सतीश कुमार	वैज्ञानिक एच
प्रयोगशाला सदस्य :	हिमबिन्दु गली	अनुसंधान एसोसिएट
	अक्षय जोशी	परियोजना अध्येता (अप्रैल 2014 से नवम्बर 2014)

उद्देश्य :

हमारे मवेशियों की गुणवत्ता में सुधार के लिए उन विशेषताओं में सुधार लाने की आवश्यकता है जो उनकी प्रजनन क्षमताओं के साथ पशुओं के कल्याण के संदर्भ में महत्वपूर्ण हैं। भ्रूण प्रौद्योगिकी प्रजनन प्रौद्योगिकी का एक रूप है जिसमें पशु कृषि उद्योग को बहुत अधिक प्रभावित किया है। भ्रूण का पात्रे उत्पादन एक तीन चरण वाली प्रक्रिया है जिसमें ऊसाइट परिपक्वन, ऊसाइट निशेचन और पात्रे संवर्धन शामिल है। ऊसाइट की गुणवत्ता प्रक्रिया के भविश्य निर्धारण के लिए महत्वपूर्ण है। सबसे बड़ी चुनौती पारजनन के लिए गुणवत्तापूर्ण ऊसाइट प्राप्त करने की है। ऊसाइट के पात्रे उत्पादन से मवेशी उद्योग में तेजी से मूल्यवान आनुवंशिक गुणों को बढ़ाकर क्रांति लाई जा सकती है। पुनः, हाल की अनेक उन्नतियों के बावजूद, पारजनन के लिए ऊसाइट प्राप्त करना इनकी जटिल संरचना तथा सीमित उपलब्धता के कारण चुनौती बनी हुई है। स्टेम कोशिकाओं को उनकी असीमित प्रवर्धन क्षमता की संभाव्यता और मेरे लिए शरीर के प्रत्येक कोशिका प्रकार से प्रजनन, भ्रूण प्रकटन एवं जीनोम संपादन (ट्रांस जेनेसिस) खास तौर पर बड़े फार्म जंतुओं में सहायता देने का विशिष्ट मार्ग है, क्योंकि इससे जीनोम संपादन दक्षता में पर्याप्त सुधार होता है तथा उत्पाद विकास समय सीमा में कमी आती है। फार्म जंतुओं में गैमेट और भ्रूण का प्रकटन रोग की मॉडलिंग, बुनियादी अनुसंधान तथा पारजीनी जंतुओं के उत्पादन में महत्व रखता है। अतः भ्रूण स्टेमकोशिका के अवकलन से, जो प्लूरीपोटेंट स्टेम कोशिकाओं को ऊसाइट में उद्दीपित करती हैं, इनसे पारजीनी मवेशियों के उत्पादन के लिए अंड कोशिकाओं का असीमित स्रोत मिल सकता है। जबकि बड़े जंतुओं में अनुसंधान के इस क्षेत्र में प्रभावी रिप्रोग्रामिंग प्रोटोकॉल तथा भरोसेमंद अवकलन प्रोटोकॉल का प्रभाव है, जो विभिन्न स्टेम सेल लिनिएज का उत्पादन करने में सक्षम हैं। परियोजना का मुख्य लक्ष्य फार्म जंतुओं में अत्यंत दक्ष विधियों का विकास करना है जिससे पात्रे उर्वर ऊसाइट का उत्पादन करना है, जिन्हें पुनः भ्रूण अंतरण प्रौद्योगिकियों में उपयोग के लिए आगे निषेचित और भ्रूण में विकसित किया जा सके। अतः भ्रूण स्टेम कोशिकाओं के अवकलन से ऊसाइट में उद्दीपित प्ल्यूरीपोटेंट स्टेम कोशिकाओं (आईपीएससी) को पारजीनी जंतु स्टॉक के उत्पादन के लिए अंड कोशिका के असीमित स्रोत के रूप में उपयोग किया जा सकता है। अब तक चूहा भ्रूण स्टेम कोशिकाओं के अवकलन में उपयोग के लिए अनेक संवर्धन प्रणालियों को परखा गया है और प्लूरीपोटेंट स्टेम कोशिकाओं को जर्म सेल लिनिएज में उद्दीपित किया गया है। जबकि यह स्थापित करना संभव नहीं है कि एक दक्ष संवर्धन प्रणाली बनाई जाए जिससे गैमेटोजेनेसिस तथा संतति में योगदान देने की संभावना वाली जर्म कोशिकाओं की असीमित संख्या उत्पन्न की जा सके।

परियोजना में उद्दीपित प्लूरीपोटेंट स्टेम कोशिकाओं की स्थापना तथा निम्नलिखित स्पश्ट उद्देश्यों के साथ फार्म पशुओं (भेड़ तथा भैंस) में ऊसाइट में इनके अवकलन का प्रस्ताव है।

1. भेड़ और भैंस से फाइब्रोब्लास्ट सेललाइन की स्थापना।
2. भेड़ और भैंस आईपीएससी को व्युत्पन्न करना।
3. भेड़ और भैंस आईपीएससी का अवकलन प्राइमोर्डियल जर्म कोशिकाओं तथा आगे ऊसाइट में विकास करना।
4. आईपीएससी से व्युत्पन्न ऊसाइट का कार्यात्मक लाक्षणीकरण।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (31 मार्च, 2014 तक)

त्वचा तंतुप्रसू का पृथक्कीकरण और संवर्धन :

आईपीएससी के सृजनार्थ पूर्व में पृथक्कीकृत भेड़ और भैंस के तंतुप्रसू का उपयोग किया गया था।

कैरियोटाइपिंग :

0.02 मा.ग्रा. / मि.ली. कोल्सेमिड के साथ 3 घंटे तक उपचारित कर मैटा चरण में अत्यधिक वृद्धि वाली भेड़ और भैंस की त्वचा के तंतुप्रसूओं का निरोध किया गया। कोशिकाओं को ट्रिप्सिनलेपित किया गया और 8 एमएल अल्प परसारी विलयन(75 एमएम

केसीएल) से शोधित किया गया, पहले 15 मिनट तक 37 डिग्री से. पर गर्म किया गया जिसके बाद ऑफिक्सेटिस विलयन (मिथेनॉलः ग्लेसियलसेटिक एसिड 3:1) की कुछ बूंदें मिलाई गई और कोशिकाओं को हल्के से मिश्रित किया गया। कोशिकाओं को 5 मिनट के लिए 1000 आरपीएम पर अपकेंद्रित किया गया और सुपरनेटेंट को हटा दिया गया। कोशिकाओं को अन्य 5 एमएल ऑफिक्सेटिव विलयन में पुनः निलंबित किया गया। धावन का यह चरण ऑफिक्सेटिव विलयन में तीन बार दोहराया गया। स्वच्छ कांच के स्लाइड में कम से कम 20–30 माइ.ली. कोशिका निलंबन मिलाया गया और कमरे के तापमान पर सुखाया गया। सूखी स्लाइडों को रात भर 2 घंटे के लिए गिमसी (गुर बफर में 4 प्रतिशत) के साथ रंजित किया गया जिसके बाद आसवित पानी में प्रक्षालन किया गया। स्लाइडों को पीबीएस निहित 50 प्रतिशत ग्लिसरोल के साथ धारण किया गया और इसका ऑलिम्पस सूक्ष्मदर्शी से विश्लेषण किया गया।

भेड़ और भैंस के आईपीएससी का लैन्टीवायरल पारगमन और पृथक्कीकरण :

एफयूडब्ल्यू–ओएसकेएम और एफयूडब्ल्यू– नैनोग, लेंटीवायरल प्लाज्मिड को अभिव्यक्त करने वाले कारकों, माउस ऑक्ट 4, सॉक्स2, केएलएफ4, सी– मिक और माउस नैनोग को लिपो फिक्टामाईन का उपयोग करते हुए एचईके 293 टी कोशिकाओं में पारगमन कराया गया। पारगमन के 48 और 72 घंटे बाद, सुपरनेंट युक्त विषाणु कणों को प्राप्त किया गया था। इन सुपरनेंटों को 2–10 मा.ग्रा. पोलीब्रिन युक्त, दोनों कोशिकाओं के लाइसिन वृद्धि माध्यमों के तंतुप्रसूओं में अंतरित किया गया था। विषाणुओं के पारगमन के 48 घंटे बाद माउस भ्रूण तंतुप्रसू आधारित फीडर कोशिकाओं पर रखा गया था। फीडरों पर रखे जाने के 24 घंटे बाद, कोशिकाओं को डीएमईएम, 20 प्रतिशत संघात शुक्राणु प्रतिस्थापन, 2 एमएमएल–ग्लूटामिन, 1 प्रतिशत गैर – आवश्यक एमिनो एसिड 0.1 एम एम बीटा – मर्काप्टोथैनॉल, 4 नैनोग्राम / मि.ली एफजीएफ, 1000 यू / मि.ली. एलआईएफ निहित आईपीएस माध्यमों में 3 सप्ताह के लिए सवंर्धित किया गया था। एईएस कोशिकाओं के साथ बीआईपीएस कोशिकाओं के सदृश आकारिकी के साथ पृथक किया गया और नई फीडर से लिपटी डिशों पर फिर से रखा गया। पृथक्कीकृत कॉलोनियों को आईपीएससी कोशिका लाइनों में विस्तारित किया गया, हिमीभूत किया गया और उनकी ईएस कोशिकाओं जैसी आकारिकी की निगरानी करने के लिए लगभग 20 मार्गों तक इसे बरकरार भी रखा गया।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015

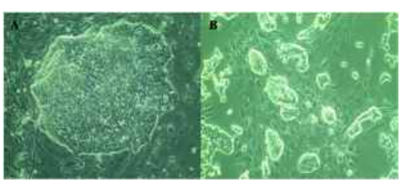
परियोजना का पहला उद्देश्य भेड़ और भैंसों की त्वचा के तंतुप्रसूओं से सेलीनेस (कोशिकापन) स्थापित करना और इन कोशिकाओं से प्रेरित प्ल्यूरीपोटेंट स्टेम कोशिकाएं उत्पन्न करना था। इससे पूर्व हमने इन कोशिकाओं के आईपीएससी में ई–प्रोग्रामिंग के लिए भेड़ और भैंसों से वयस्क दैहिक सेलीनेस स्थापित किया था। इसकी पुष्टि के लिए कि क्या इन कोशिकाओं में गुणसूत्रों की संख्या और गुणसूत्री रचना सामान्य है, गुणसूत्री रचना विश्लेषण किया गया।

रि–प्रोग्रामिंग के लिए अनुलेखन कारकों की अभिव्यक्ति के लिए, भेड़ और भैंस, दोनों से प्रेरित प्ल्यूरीपोटेंट स्टेम कोशिका लाइनें स्थापित करने के लिए कोशिका लाइन लेंटीवायरल एप्रोच अपनाई गई है। 293 टी पैकेजिंग सेलीनेस में लेंटी वायरस उत्पन्न किए गए थे और मादा भ्रूण कोशिका लाइनों एवं डिंबाणुजन कोशिकाओं में और अधिक अंतर करने के लिए कुशलतापूर्वक आईपीएससी सृजित करने हेतु

प्रयोगशाला में संवर्धन की स्थितियां स्थापित करने के लिए त्वचा तंतुप्रसूओं को संक्रमित करने हेतु वायरल कणों वाले सुपरनेंट्स का उपयोग किया गया था। हम भेड़ और भैंस से स्वीकृत आईपीएससी पृथक कर सके और नीचे (चित्र 1) में आईपीएससी व्युत्पन्न बाईसेल रि–प्रोग्रामिंग की प्रस्तुति दी गई है। इनकी प्ल्यूरीपोटेंट स्टेम कोशिका का मूल्यांकन करने के लिए इन कॉलोनियों का और अधिक लक्षण निर्धारण आवश्यक होगा।

प्रकाशन :

1. सिंह वी पी, गुरूनाथन सी, सिंह एस, सिंह बी, ज्योति लक्ष्मी बी, मिश्रा ए पी, कुमार एस (2015) जेनेटिक डिलेशन ऑफ डब्ल्यूडीआर 13 इम्प्रूव्स मेटाबोलिक फिनोटाइप ऑफ लेप आरडीबी / डीबी माइस बाय मॉड्यूलेटिंग एपी1 एंड पीपीएआर टार्गेट जींस। **डायबेटोलॉजिया** 58 : 384–392.



चित्र 1. फीडर कोशिकाओं (क) भेड़ आईपीएस कोशिकाओं और (ख) भैंस आईपीएस कोशिकाओं पर वृद्धिमान अविभेदक आईपीएससी।

संक्रामक रोग

बैक्टीरियल रोग

जूनोटिक रोगाणु, ब्रूसेला की रोगाणुजनक प्रक्रिया को समझना एवं जंतु और मानव ब्रूसेलोसिस के लिए नए टीकों के विकास और नैदानिक आमापन

प्रधान अन्वेषक :	गिरीश के राधाकृष्णन	वैज्ञानिक डी
प्रयोगशाला सदस्य :	बिन्दु भार्गवी	अनुसंधान अध्येता
	पद्मजा जाक्का	अनुसंधान अध्येता
अन्य सदस्य :	सरवार अजाम	वैज्ञानिक बी, एनआईएबी
	दिलीप रेड्डी	डीबीटी–आरए, एनआईएबी

उद्देश्य :

ब्रूसेलोसिस एक संक्रामक रोग है जो जीनस ब्रूसेला के बैक्टीरिया से होती है जो मानव और घरेलू तथा वन्य जंतुओं को प्रभावित करता है और इससे जन स्वास्थ्य और पशु उद्योग पर उल्लेखनीय प्रभाव पड़ता है। ब्रूसेलोसिस भारत में एक महामारी है और इस रोग की जानकारी मवेशी, भैंस, भेड़, बकरी, सुअर, कुत्तों तथा मानवों में दी गई है। भारत में हाल के वर्षों में मानव ब्रूसेलोसिस के बढ़ने की दर में तेजी आई हे और मुख्य सरोकार की प्रजातियां बी. मेलिटेंसिस और बी. एबॉट्र्स हैं। ब्रूसेलोसिस का एंटीबायोटिक उपचार जटिल बना हुआ है, जिसमें एक से अधिक एंटीबायोटिक लंबे समय तक देने की जरूरत होती है तथा इलाज की दक्षता कई बार इलाज की बार बार विफलता और दोबारा होने के कारण घट जाती है। ब्रूसेलोसिस के लिए कोई मानव टीका उपलब्ध नहीं है और जंतु के मौजूदा टीकों में कई नुकसान हैं। ब्रूसेलोसिस मेजबान विशिष्टता के आधार पर न्यूनतम जानकारी उपलब्ध है और रोगजनकता कारक, जिनसे ब्रूसेलोसिस मेजबान में जीवित रहता है और द्विगुणन करता है। ब्रूसेलोसिस के लिए मौजूदा टीकों और इलाज की सीमाओं को देखते हुए नए इलाज और निवारक कार्यनीतियों की जरूरत है, किन्तु इसकी प्रगति को अनिवार्य प्रक्रिया पर ज्ञान के अभाव और रोगजनक कारकों की सक्षमता पर प्रभावित होती है, जिससे ब्रूसेलोसिस उत्तरजीविता बढ़ती है और यह मेजबान में द्विगुणन करता है। मेरे अनुसंधान की परियोजनाओं के समग्र उद्देश्य निम्नानुसार हैं :

1) पशु और मानव ब्रूसेलारूग्णता के लिए नवीन टीके और निदान आमापन विकसित करना।

2) भारत में ब्रूसेला मेलिटेंसिस और ब्रूसेला एबोर्टस उपभेदों की आनुवंशिक विविधता का विश्लेषण करना।

2) ब्रूसेला – पोषद अंतःक्रिया का अध्ययन करना।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (31 मार्च, 2014 तक)

मानव ब्रूसेल रूग्णता का नियंत्रण, जनसामान्य के टीकाकरण द्वारा पशुधन में रोग की रोकथाम पर निर्भर करता है। पशुधन ब्रूसेलरूग्णता के लिए नई जीवित तनुकृत वैक्सीन विकसित करने की दिशा में, हमारी योजना सहधर्मी पुनर्संयोजी और क्री–लॉक्स तकनीक का उपयोग करते हुए बहु –उग्र जीनों में बी. एबोर्टस अभाव करना है। चार उग्र जीनों के लिए जीन संघात कैसेटें तैयार किए गए और निर्बंधन उपचारण और अनुक्रमण द्वारा इसकी पुष्टि की गई।

गोयक्ष्मा ब्रूसेलरूग्णता के लिए नए सिरो–नैदानिक आमापन विकसित करने के लिए, हमने ब्रूसेला प्रोटीन आमापनों के प्रतिरक्षी जांच द्वारा प्राकृतिक रूप से संक्रमित पशुधन में ब्रूसेला के प्रतिरक्षा प्रमुख प्रतिजनों की पहचान करने के लिए एक परियोजना शुरू की है। इस लक्ष्य के लिए, हमने स्वस्थ एवं बी. एबोर्टस संक्रमित कैटल से शुक्राणु एकत्र किए और संक्रमण की पुष्टि के लिए एलिसा द्वारा शुक्राणु के नमूनों का विश्लेषण किया।

भारत में ब्रूसेला आइसोलेट्स की आनुवंशिक विविधता का विश्लेषण करने के लिए, हमने प्राकृतिक संक्रमित बकरी से पृथक्कीकृत बी. मेलिटेंसिस आईएनडी 1 उपभेद का पूर्ण जीनोम अनुक्रमण किया। जीनोम के संबंध में टीका की गई और इसे एक्सेशन जेएमकेएल 00000000 के तहत डीडीबीजे / ईएमबीएएल / जीनबैंक में जमा किया गया।

ब्रूसेला टीआईआर डोमेन निहित प्रोटीन (टीसीपीबी) को कोडित करता है जो टीएलआर 2– और टीएलआर 4– माध्यित नैसर्गिक प्रतिरक्षा संकेतन को बाधित करती है। अध्ययन संकेत करते हैं कि टीएलआर 2– और 4 को बाधित करने के लिए टीसीपीबी,

टीएलआर अनुकूलक प्रोटीन टीआईआरएपी को लक्षित करता है। हालांकि, पीसीपीबी की क्रियाविधि के वास्तविक तंत्र के बारे में जानकारी नहीं थी। उच्च थ्रूपुट खमीर–2 संकर जांच का उपयोग करते हुए, हमने पहचान की कि टीसीपीबी, माइक्रोट्यूब्यूल बंधन प्रोटीन (एमबीपी–1) के साथ अंतःक्रिया करता है। इसके बाद किए गए विश्लेषणों से पता चला कि एमबीपी–1, यूबिक्विटीन लाइगजे के रूप में कार्य करता है जो विशिष्ट तौर पर टीएलआर अनुकूलक प्रोटीन टीआईआरएपी को लक्षित करता है।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

परियोजना 1 : भारत में ब्रूसेला मेलिटेंसिस उपभेदों की आनुवंशिक विविधता का विश्लेषण करना।

यद्यपि, भारत में ब्रूसेलारूग्णता एक महामारी रोग है, ब्रूसेला प्रजाति की आनुवंशिक विविधता और आबादी संरचना के बारे में कोई जानकारी नहीं है। बी. मेलिटेंसिस, भारत में मानव ब्रूसेलारूग्णता का आम कारण है और यह रोग मुख्यतः कच्चे दूध और दुग्ध उत्पादों को ग्रहण करने से होता है। हमने मल्टी लोकस सिक्वेंस टाइपिंग (एमएलएसटी) द्वारा भारत से पांच बी. मेलिटेंसिस आइसोलेट्स की आनुवंशिक विविधता का विश्लेषण किया और ऐसे नौ बिंदुपथों का अनुक्रमण किया जिनमें सात हाउसकीपिंग जीन में शामिल थे, एक बिंदुपथ बाह्य श्लेष्मा प्रोटीन 25 और एक बिंदुपथ, इंटरजेनिक क्षेत्र से था (चित्र 1)। इसके बाद, हमने भारत से पांच बी. मेलिटेंसिस आइसोलेटस के एक–दूसरे से एलेलिक प्रोफाइलों और अन्य रिपोर्टित ब्रूसेला प्रजातियों के साथ तुलना की। जातिवृत्तिक विश्लेषण से भारत में बी. मेलिटेंसिस की आबादी में अंतरा–विशिष्ट अपसरण के उच्च स्तर इंगित होते हैं।

विस्तृत आनुवंशिक लक्षण निर्धारण के लिए हमने बी. मेलिटेंसिस आइसोलेट्स, बीएम इंड 1 के एक आइसोलेट्स का पूर्ण जीनोम अनुक्रमण और तुलनात्मक जीनोम विश्लेषण किया। बीएम इंड 1 का जीनोम विवरण प्रकाशित किया गया है (राव ईटी एल. जीनोम अनाउंसमेंट्स, 2014)। तुलनात्मक जीनोम विश्लेषण से बीएम इंडिया 1 जीनोम में 141 विशिष्ट एसएनपी, 78 वीएनटीआर, 27 इंडेल और 2 स्वीकृत प्रोफेज एकीकरणों की पहचान की गई (चित्र 2)। इन आनुवंशिक मार्करों को ब्रूसेला आबादी की संरचना समझने और प्रकोप विश्लेषण के लिए उच्च रिजोल्यूशन प्रकोपी टाइपिंग उपकरण विकसित करने के लिए उपयोग किया जा सकता है। उग्रता संबंधी जीनों में पूर्वावस्था एकीकरण घटनाक्रमों और इंडेल्स संबंधी सूचना से बीएम इंड 1 की उग्रता विशेषताओं के और अधिक प्रायोगिक लक्षण निर्धारण के लिए महत्वपूर्ण बढ़त मिलेगी। इससे पशु और मानव ब्रूसेलरूग्णता के नियंत्रण के लिए कुशल उपचार संबंधी और रोकथाम संबंधी कार्यनीतियां तैयार होंगी।

परियोजना 2 : ब्रूसेलोसिस के लिए नव निदान आमापनों के विकास हेतु बी.एबोर्ट्स के प्रतिरक्षी प्रभावी एंटीजनों की पहचान

मवेशियों में ब्रूसेलोसिस का शीघ्र निदान प्रभावी नियंत्रण उपायों के लिए अत्यत महत्व रखता है, इससे अंततः मानव ब्रूसेलोसिस की दर में कमी लाने में सहायता मिलेगी। संक्रमण के दौरान शरीर के तरलों में स्रावित होने वाले एंटीजनों की प्रतिरक्षा आमापन करना सूक्ष्मजीवी संक्रमणों का जल्दी पता लगाने वाले तीव्र नैदानिक साधनों में से एक है। प्राथमिक रूप से मानव और पशु ब्रूसेलोसिस का मौजूदा सिरोलॉजिकल निदान रोगी के सीरम में ब्रूसेला की लाइपोपॉलीसेकेराइड (एलपीएस) की एंटीबॉडी की पहचान पर आधारित है। एलपीएस प्रतिरक्षा प्रभुत्वकारी एंटीजन है, किन्तु यह अनेक अन्य ग्राम ऋणात्मक बैक्टीरिया सहित येन सिनिया एंटेरोकोलिटिका 0:9, ई.कोलाई 0:157, फ्रेंसिएला टुलारेंसिस, सालमोनेला अरबाना, स्यूडोमोनास मल्टीटिलिया तथा अन्य अनेक सहित विशम अभिक्रिया करता है। एंटी एलपीएस एंटीबॉडी आधारित सीरो निदान में भी यह अवकलित करने की अक्षमता है कि क्या एलपीएस एंटीबॉडी का कारण टीकाकरण या नया संक्रमण है। संवर्धन द्वारा ब्रूसेला का निदान कठिन हैं, क्योंकि यह कठिनाई से प्राप्त होने वाला है, इसकी वृद्धि धीमी और प्रयोगशाला कार्मिकों के लिए संभावित रूप से जोखिमपूर्ण है। अतः यह अनिवार्य है कि ब्रूसेलोसिस के लिए नए और अधिक विशिश्ट सीरो नैदानिक आमापनों का विकास किया जाए।

हमने संक्रमित / स्वस्थ कैटल शुक्राणु के साथ ब्रूसेला प्रोटीन सूक्ष्म आमापनों की प्रतिरक्षा जांच की जिसमें बी. एबोर्टस के 15 संभावित प्रतिरक्षा प्रमुख प्रतिजनों की पहचान हुई। पांच उच्च स्कोर प्राप्त प्रतिजनों का क्लोन बनाया गया और ई. कोलाई में अति अभिव्यक्त थे (चित्र 3)। आमापन विकास के लिए बी. एबोर्टस के प्रतिरक्षा प्रमुख प्रतिजनों का शुद्धिकरण किया जा रहा है।

परियोजना 3 : बी. मेलिटेंसिस से प्रोटीन युक्त टीआईआर डोमेन का आण्विक लक्षण– निर्धारण।

ब्रूसेला प्र. में अपनी उत्तरजीविता और प्रतिकृति के लिए कम आक्रामक वातावरण तैयार करने के लिए पोषद नैसर्गिक प्रतिरक्षा प्रतिक्रियाओं का प्रभाव कम करने के लिए टीआईआर डोमेन निहित प्रोटीन (टीसीपीबी) को कोडित करता है। टीसीपीबी, एनएफ–के बी सक्रियण और टोल–लाइके रिसेप्टर (टीएलआर) 2 और 4 द्वारा माध्यित पूर्व–शोथज साइटोकिन स्रवण को बाधित करता है। टीसीपीबी रहित बी. मेलिटेंसिस में माउस मॉडल में तनुकृत प्ररूपी दिखाई दिया जिससे संकेत मिलता है कि टीसीपीबी,

ब्रूसेला के महत्वपूर्ण उग्र कारक का कार्य करता है। टीसीपीबी, एक कोशिका पारगम्य प्रोटीन है और टीएलआर 2 एवं 4 संकेतन को बाधित करने के लिए यह टीएलआर अनुकूलन प्रोटीन टीआईआरएपी को लक्षित करता है। हमारे प्रारंभिक अध्ययनों से संकेत मिलता है कि टीसीपीबी, टीआईआरएपी के वर्धित यूबिक्विटिनेशन के लिए माइक्रोट्यूबूल बंधन प्रोटीन (एमबीपी–1) को प्रविष्ट करता है। हमने इसका विश्लेषण करने के लिए कि क्या एमबीपी–1, टीएलआर 4 एनएफ–के बी सक्रियण को संदमित करता है, ल्यूसिफरेज रिपोर्टर आमापन का निष्पादन किया। विश्लेषण संकेत करते हैं कि एमबीपी–1 ने खुराक आश्रित विधि में टीएलआर4 संकेतन का दमन किया (चित्र–4)। पूर्व शोथज साइटोकाइन्स के एस्टझर्त आरएनए सक्षम टीएलआर 4 माध्यित स्रवण का उपयोग करते हुए वृहदभक्षिका में देशज एमबीपी–1 की साइलेंसिंग (चित्र–5)। हम वर्तमान में टीएलआर 4 संकेतन के दमन की पुष्टि करने के लिए जीन विशिष्ट एसआईआरएनए के उपयोग से चूहों में एमबीपी–1 की साइलेंसिंग का निष्पादन कर रहे हैं। यह प्रतीत होता है कि टीसीपीबी, पोषद नैसर्गिक प्रतिरक्षा के प्रभाव को कम करने के लिए टीएलआर 4 संकेतन के एमबीपी–1 माध्यित नेगेटिव विनियमन का दोहन करता है।

परियोजना 4 : बकरियों की पीपीआरवी सुग्राह्य और प्रतिरोधी नस्लों में एसएलएएम और नेक्टिन–4 रिसेप्टर्स में एकल न्यूक्लिओटाइड बहुरूपता का विश्लेषण।

पेस्टे डेज पेटिट्स रोमंथी एक तीक्ष्ण, काफी अधिक संक्रामक पारसीमा वायरल रोग है। पीपीआरवी से काफी अधिक अस्वस्थता और इसकी मृत्यु दर अधिक होती है जिससे देश की छोटी रूमंथी आबादी में वार्षिक 1800 मिलियन रुपए का घाटा होता है। बकरियां रोग के प्रति अधिक संवेदी होती हैं और ज्वर, नेत्र–नासा आस्रावण, आंत्र एवं वक्ष निमोनिया के रूप में इसके लक्षण प्रकट होते हैं जिसके बाद मृत्यु हो जाती है।

संकेतन लसकोशिका सक्रियण अणु (एसएलएएम) एक श्लेष्मा ग्लाइकोप्रोटीन है, जो पीपीआरवी संक्रमण के लिए स्वीकृत को–रिसेप्टर का कार्य करता है। पीपीआरवी के लिए बंधन स्थल के रूप में एसएलएएम से इतर, नेक्टिन–4 एक उपकला रिसेप्टन की पहचान भी की गई। बकरियों की बारबडी और तेलीचेरी नस्लें पीपीआरवी के प्रति अधिक संवेदी हैं जहां कन्नी और सेलम काली नस्लें पीपीआरवी संक्रमण प्रतिरोधी हैं। इस परियोजना का उद्देश्य बकरियों की पीपीआरवी संवेदी और प्रतिरोधी नस्लों में एसएलएएम और नेक्टिन–4 रिसेप्टर्स में एसएनपी की जांच करना है। एसएनपी के आंकड़ों से बढ़े प्रतिरोधी विशेषकों के लिए मार्कर समर्थित संकरण में मदद मिल सकती है।

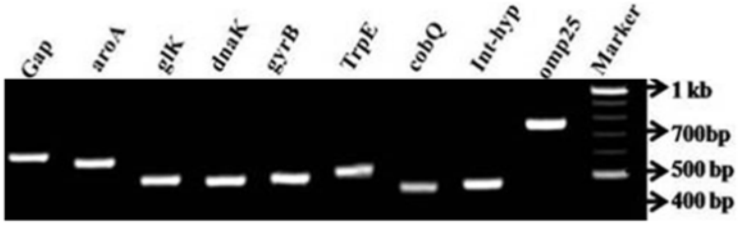
इस उद्देश्य के लिए, बकरी की तेलीचेरी नस्ल की परिसरीय रक्त एक केंद्रक कोशिकाओं से जीनोमिक डीएनए पृथक किया गया था। एसएलएएम और नेक्टिन –4 जीनों के एक्सॉन्स को प्रवर्धित करने के लिए पीसीआर प्राइमर बनाए गए थे। बकरी की तेलीचेरी नस्ल से एसएलएएम जीन एक्सॉन का प्रवर्धन चित्र 6 में दिखाया गया है। पीसीआर एंलीकॉन का अनुक्रमण एवं विश्लेषण किया जा रहा है।

सारांश

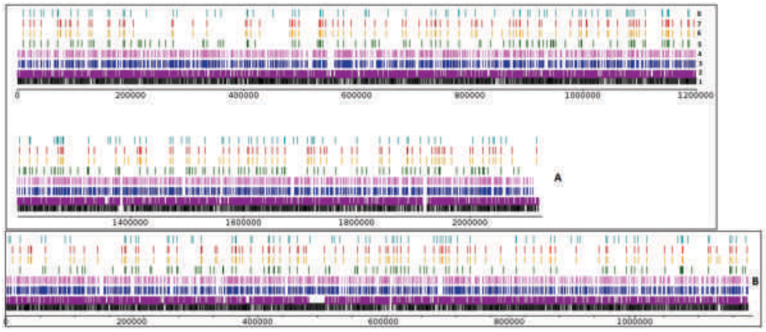
हमने भारत से बी. मेलिटेंसिस आईएनडी 1 का पूर्ण जीनोम अनुक्रमण और तुलनात्मक जीनोम विश्लेषण किया। हमारे अध्ययनों से सृजित आंकड़े आण्विक जानपदिकरोग अध्ययनों के लिए स्थिर मार्करों जैसे एसएनपी और वीएनटीआर आधारित नए नैदानिक आमापन विकसित करने में मददगार हो सकता है। एसएनपी, इंडेल और नए फेज एकीकरण स्थलों की पहचान से इस गुप्त रोगकारक के उग्रता तंत्रों की जानकारी मिलेगी जिससे अंततः ब्रूसेलोसिस को नियंत्रित करने के लिए नई औषधि और निवारक कार्यनीतियां विकसित होगी। ब्रूसेलोसिस के लिए नए नैदानिक आमापन विकसित करने के लिए, हमने प्राकृतिक संक्रमित कैटल में बी. एबोर्टस के प्रतिरक्षी प्रमुख प्रतिजनों की पहचान की। बी. मेलिटेंसिस के टीसीपीबी की आण्विक विशेषताओं से हमें उस तंत्र की जानकारी मिलेगी जिसके द्वारा ब्रूसेला पोषद नैसर्गिक प्रतिक्रियाओं का दमन करता है। हमने बकरियों की पीपीआरवी सुग्राही और प्रतिरोधी नस्लों में एसएलएएम और नेक्टिन–4 में एनएनपी का विश्लेषण किया जिससे पीपीआरवी संक्रमण के प्रति पोषद सुग्राह्यता / प्रतिरोध के तंत्र को समझने के लिए महत्वपूर्ण बढ़त मिलेगी।

प्रकाशन

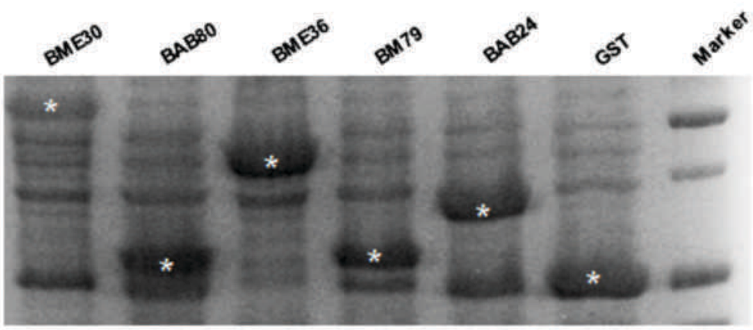
1. रिव एस बी, गुप्ता वी के, कुमार एम, हेगड़े एन आर, स्पिलटर जी ए, रेड्डाना पी और राधाकृष्णन जी के (2014). ड्राफ्ट जीनोम सिक्वेंस ऑफ द फील्ड आइसोलेट ब्रूसेला मेलिटेंसिस स्ट्रेन बीएम इंडिया–1 फ्रॉम इंडिया। **जीनोम अनाउंसमेंट्स** 2 (3) : ई00497 – 14.



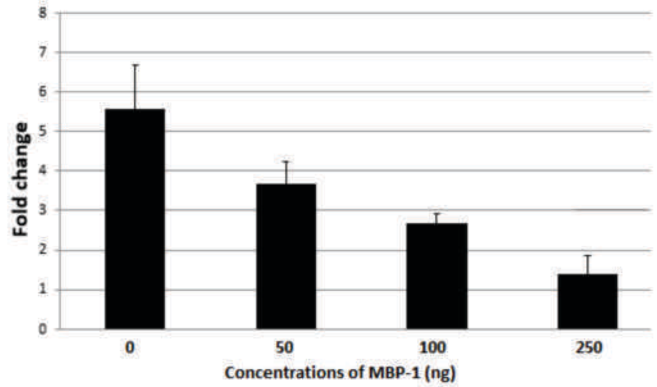
चित्र 1 : बी. मेलिटेंसिस आईएनडी 1 उपभेद से नौ बिंदुपथों का प्रवर्धन दर्शानेवाला जेल फोटो।



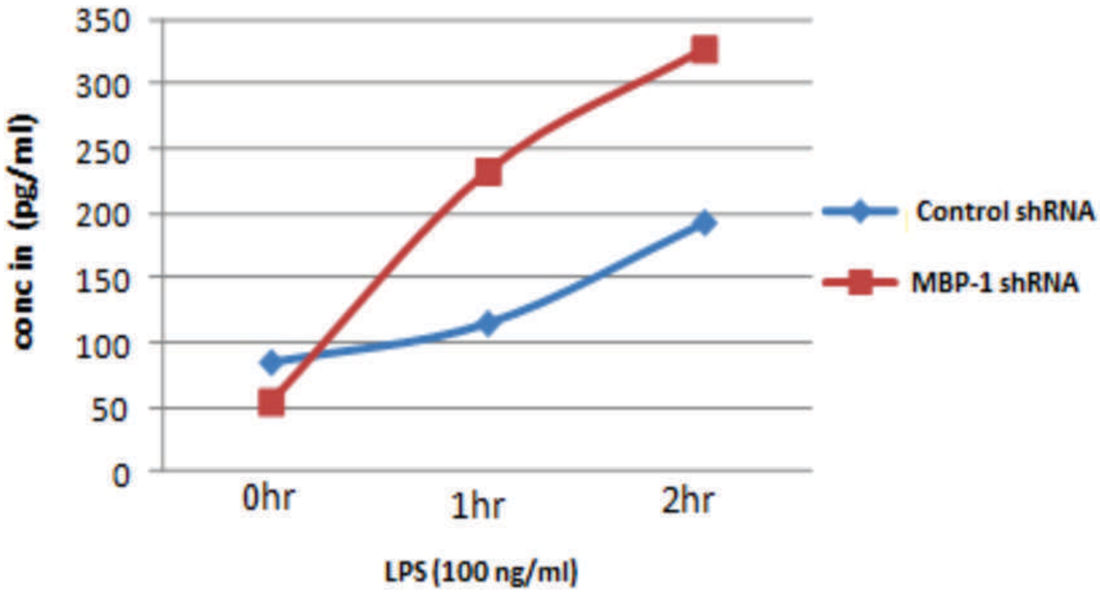
चित्र 2 : बी. मेलिटेंसिस आईएनडी 1 गुणसूत्र 1 (क) और गुणसूत्र 2 (ख) में एकल न्यूक्लियोटाइड बहुरूपता। लाइन 1, सीडीएस (काला); लाइन 2, बी. एबोर्टस 2308 के खिलाफ एसएनपी (पर्पल); लाईन 3, बी. मेलिटेंसिस 16 एम के खिलाफ एसएनपी (नीला); लाईन 4, बी. मेलिटेंसिस एडीएमएएस– जी1 के खिलाफ एसएनपी (गुलाबी); लाईन 5, बी. मेलिटेंसिस एनआई के खिलाफ एसएनपी (हरा); लाईन 6, बी. मेलिटेंसिस एम5– 90 के खिलाफ एसएनपी (स्वर्ण); लाईन 7, बी. मेलिटेंसिस एम28 के खिलाफ एसएनपी (लाल); लाईन 8, बी. मेलिटेंसिस एटीसीसी 23547 के खिलाफ एसएनपी (फिरोजा)।



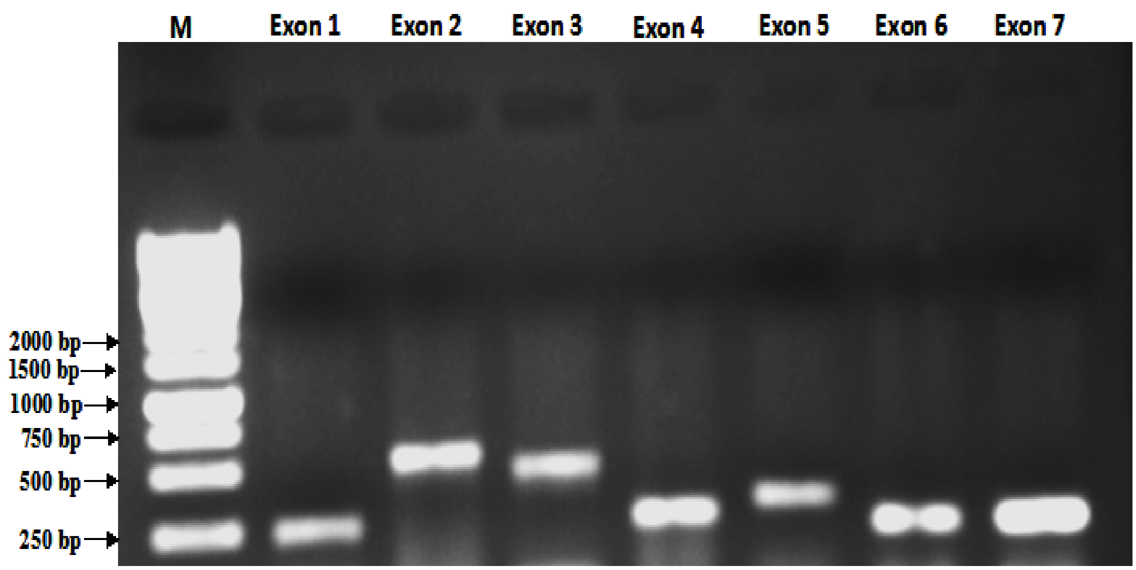
चित्र 3 : अति अभिव्यक्त ब्रूसेला एबोर्टस प्रतिजनों का एसडीएस पीएजीई विश्लेषण।



चित्र 4 : एमबीपी–1, टीएलआर 4– प्रेरित एनएफ– केबी सक्रियण को बाधित करता है। एचईके 293 कोशिकाओं को एमबीपी–1 (50, 100 और 250 एनजी), पीएनएफ– केबी एलयूसी रिपोर्टर प्लाज्मिड (100 एनजी) और पीआरएल– टीके (50 एनजी) के वर्धमान सांद्रण से टीएलआर4, सीडी14 और एमडी2 (प्रत्येक 200 एनजी) को कोडित करने वाले प्लाज्मिड से सह–ट्रांसफेक्ट किया गया। खाली रोगवाहक जोड़कर, डीएनए के कुल परिमाण को स्थिर किया गया था। ट्रांसफेक्शन के 24 घंटे बाद, कोशिकाओं को एलपीएस (300 एनजी / एमएल) में प्रविष्ट किया गया और ड्यूल–ल्यूसीफरेज रिपोर्टर आमापन प्रणाली के उपयोग से 12 घंटे बाद ल्यूसीफरेज क्रियाविधि का आमापन किया गया था।



चित्र 5 : वृहदभक्षिका द्वारा पीएनएफ–अल्फा के एमबीपी–1 पोटेंशिएटेड स्रवण की साइलेंसिंग। जे774 कोशिकाओं को लेंटीवायरस का आश्रय लेने वाले नियंत्रण अथवा संकेतित समय बिंदुओं के लिए एलपीएस के इंडक्शन के बाद एमबीपी–1 विशिष्ट एसएचआरएनए के साथ ट्रांसड्यूस किया गया था। एलाइसा द्वारा पीएनएफ– अल्फा के स्रवण का परिमाणीकरण किया गया था।



चित्र 6 : बकरी की तेलीचेरी नस्ल के जीनोमिक डीएनए से एसएलएएम जीन एक्सॉन का पीसीआर प्रवर्धन।

लेप्टोस्पाइरा संक्रमण की मेजबान प्रतिक्रिया और आण्विक रोगजनन को समझना

प्रधान अन्वेषक डॉ. सैयद फेसल , पीएच.डी, रामालिंगम अध्येता

प्रयोगशाला सदस्य सुब्रत मुरुगन, पीएच.डी, वरिष्ठ अनुसंधान अध्येता

सहयोगकर्ता प्रो. युंग–फू चांग, कार्नेल यूनिवर्सिटी, यूएसए

प्रो. सेंथिल कुमार, टीएएनयूवीएएस, चेन्नई

प्रो. मंजुला श्रीधरण, हैदराबाद विश्वविद्यालय, हैदराबाद

डॉ. रत्नागिरी पोलावेरापु, जीनोमिक्स बायोटेक, भारत

उद्देश्य

लेप्टोस्पाइरोसिस एक जूनॉटिक रोग है जो ग्राम ऋणात्मक बैक्टीरिया, लेप्टोस्पाइरा एंटेरोगेंसिस द्वारा होता है जो दुनिया भर में फैला है। यह फार्म तथा घरेलू जंतुओं में घातक संक्रमण करने के साथ मनुश्यों को भी प्रभावित करता है (चित्र 1)। यह रोग भारत में बहुत अधिक प्रचलित होने के कारण इसका बहुत अधिक महत्व है क्योंकि देश मवेशी क्षेत्र में तेजी से विकास कर रहा है और पशु उत्पादों का विशाल उत्पादन किया जाता है। वर्तमान टीके से सीमित सुरक्षा मिलती है और वे संक्रमित पशुओं की पेशाब में बैक्टीरिया के निकलने की रोकथाम नहीं कर सकते हैं।

हाल के अनुसंधान में दर्शाया गया है कि लेप्टोस्पाइरा विविध लाइपोपॉलीसेकेराइड (एलपीएस) अभिव्यक्ति या सतही प्रोटीनों की डाउन रेगुलेटिंग अभिव्यक्ति से मेजबान प्रतिरक्षा हमले के बचाव के लिए तथा विभिन्न अंगों में तेजी से फैलने और संक्रमण फैलाने के जरिए टोल के समान ग्राही (टीएलआर) सिगनलिंग में बाधा पहुंचाते हैं। मेरे अनुसंधान समूह का मुख्य फोकस यह समझना है कि लेप्टोस्पाइरा किस प्रकार सतही प्रोटीनों के अवशोशण द्वारा टीएलआर द्वारा मेजबान की प्रतिरक्षा प्रतिक्रिया का मॉड्यूलन करते हैं और इस प्रकार संक्रमण स्थापित करते हैं। हमारा अनुसंधान निम्नलिखित उद्देश्यों पर केन्द्रित है।

1. यह निर्धारित करना कि क्या सतही प्रोटीनों के माध्यम से टीएलआर 2/ 4 को लक्षित करने से इनेट प्रतिक्रिया सक्रिय बनती है।
2. संबद्ध इंफ्लेमेटरी प्रतिक्रिया में शामिल मार्गों की पहचान करना।
3. पशु मॉडल में सर्वोत्तम सतह वाले प्रोटीन / एमपीएलए सूत्रण के टीएलआर लक्षित इम्यून प्रतिक्रिया और रक्षात्मक दक्षता का विश्लेषण करना।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (31 मार्च, 2014 तक)

हमने कुछ लेप्टोस्पायरा बाहय झिल्ली प्रोटीनों (ओएमपी)/सतही प्रोटीनों को क्लोन बनाया और इन्हें अभिव्यक्त किया। इन प्रोटीनों (लिप एल32, एलएसए 21) को जीएसटी संलयन प्रोटीनों के तौर पर शुद्धिकृत किया गया था। चूंकि लिग प्रोटीन आज तक पहचानी गई सर्वाधिक लाभदायक टीका प्रत्याशी है, यही हमारा मुख्य लक्ष्य था। हमने लिग ए और लिग बी प्रोटीनों की विभिन्न संरक्षित डोमेन और चर क्षेत्रों का क्लोन बनाया, अभिव्यक्त किया और शुद्धिकृत किया। उदाहरणार्थ, डोमेन 1–3 के सदृश लिग ए के संरक्षित क्षेत्र (लिगकॉन 1–3), 4–7 (लिगकॉन 4–7.5), लिग ए के चर क्षेत्र (लिगकॉन एवर), लिग बी के विभिन्न क्षेत्र (बी1, बी2, बी3, बी4, बी5, बी6, बी7, बी8, बी9, बी10) को शुद्धिकृत किया (चित्र 1. और चित्र 2)।

इन प्रोटीनों और डोमेनों को तदोपरांत, टीएलआर 2 प्लाज्मिड से ट्रांसफेक्टेड एचईके 293 कोशिका लाइन पर टीएलआर2 क्रियाविधि के लिए परीक्षित किया गया था। कोशिकाओं को ड्यूअल ल्यूसिफरेज आमापन किट का उपयोग करते हुए टीएलआर के लिए प्रोटीनों के साथ उद्दीपित एवं परीक्षित किया गया। प्रत्येक प्रोटीन ने आहार आश्रित तरीके से और प्रतिक्रिया में विभिन्नता सहित टीएलआर2 क्रियाविधि दिखाई (चित्र 3)। लिग प्रोटीन (लिगकॉन) अथवा उनके डोमेन (लिगकॉन 1–3, लिगकॉन 4–7.5) के संरक्षित क्षेत्र में कोई टीएलआर क्रियाविधि दिखाई नहीं दी, तथापि, चर क्षेत्र में कुछ क्रियाविधि दिखाई दी। यह जांच करने के लिए कि कौन–सा हिस्सा टीएलआर के साथ अंतःक्रिया को माध्यित कर रहा है, हमने लिग बी के एकल डोमेन (बी1, बी2, बी3, बी4, बी5, बी6, बी7, बी8, बी9 और बी10) की टीएलआर क्रियाविधि की जांच की। इन डोमेनों की टीएलआर क्रियाविधि में परिवर्तन का प्रेक्षण किया गया था (चित्र 4)। हम सक्षम टीएलआर 2 सक्रियक प्रोटीन/डोमेन की पहचान करने के लिए इन प्रयोगों को दोहरा रहे हैं। जे774 और टीएचपी 1 कोशिकाओं का उपयोग कर शोथज प्रतिक्रिया को समझने के लिए इनकी और अधिक जांच की जाएगी। हमारा लक्ष्य

लेप्टोस्पाइरा के लगभग 200 ओएमपी की जांच करना है।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

परियोजना 1 : लेप्टोस्पाइरा के विभिन्न सतही प्रोटीनों की टीएलआर2 क्रियाविधि की जांच करना

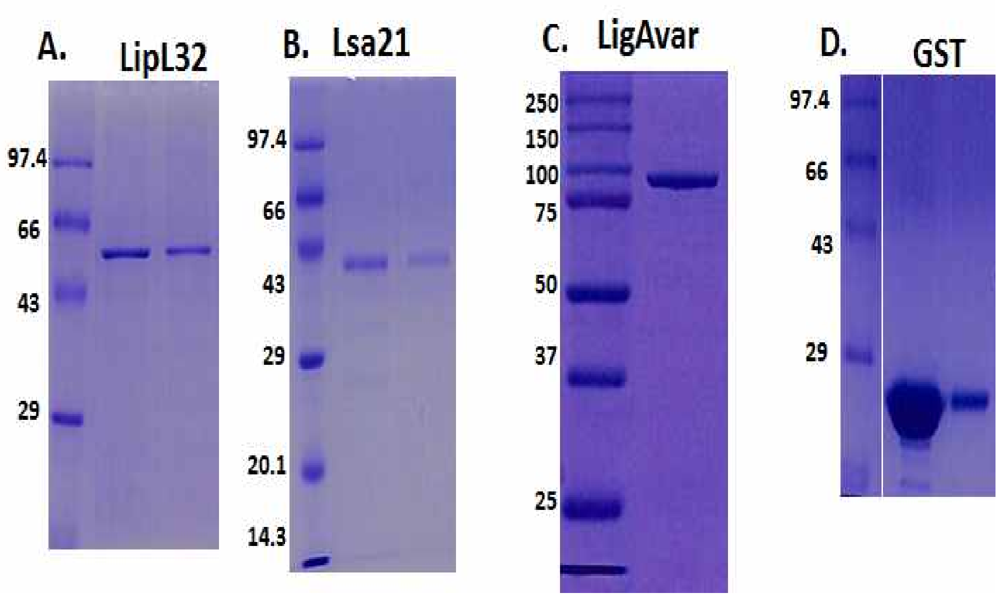
लेप्टोस्पाइरा के कुछ ओएमपी का शुद्धिकरण करने और एचईके 293 कोशिका लाइनों पर टीएलआर 2 क्रियाविधि की जांच करने के बाद, हम सर्वाधिक सक्षम टीएलआर क्रियाविधि (चित्र 1–4) वाले प्रोटीन/प्रोटीनों की पहचान कर रहे हैं। हमने टीएलआर क्रियाविधि के सक्रियण/अवरोध के मूल्यांकन के लिए लिग प्रोटीन के लिए विभिन्न डोमेन का मानचित्रण किया है। हम संकेतन मार्गों जैसे एमएपीके, जेयूएनके, एनएफकेबी के विभिन्न माध्यकों के अवरोधकों का उपयोग कर शोथज मार्गों की पहचान के लिए भी आमापन कर रहे हैं। एपीसी के सक्रियण के लिए उनकी योग्यता की और अधिक जांच के लिए इन प्रोटीनों की और अधिक जांच की जाएगी जिसका निर्धारण स्रवण शोथज अनुकूल कोशिका द्रव्यों (आईएल–6, आईएल–12, टीएनएफ–ए) से इन कोशिकाओं की क्षमता और कोस्टीम्यूलेटरी अणुओं की अभिव्यक्ति (सीडी 80, सीडी 86) और परिपक्वता मार्करों (एमएचसी 2) द्वारा किया जाएगा।

परियोजना 2 : लेप्टोस्पाइरा संक्रमण के खिलाफ पोषद प्रतिक्रिया

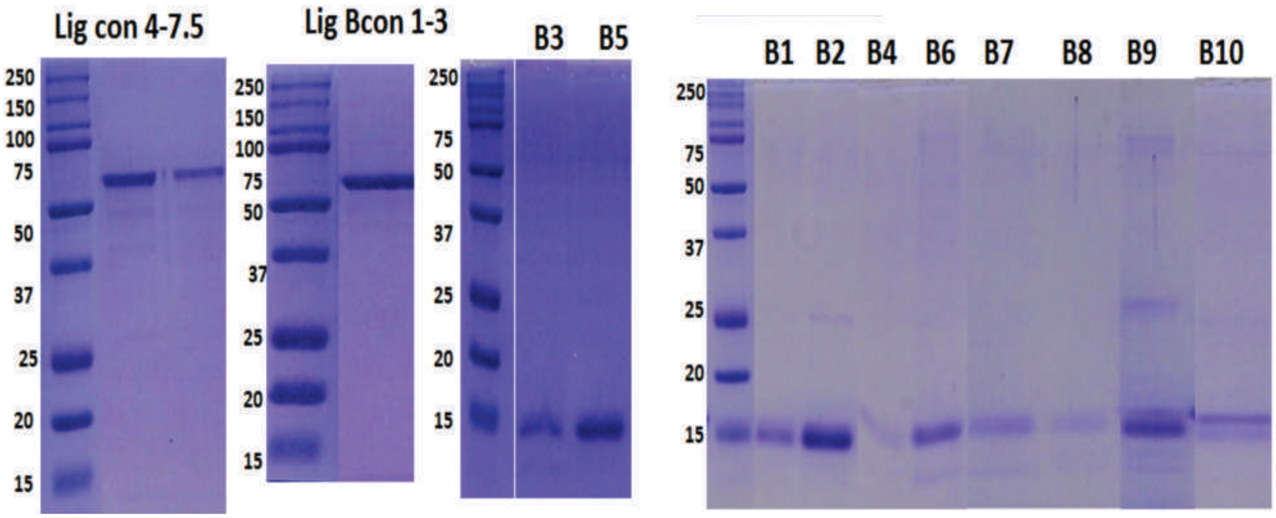
इस परियोजना में, हम लेप्टोस्पाइरा के विभिन्न सर्वोवर्स के साथ डब्ल्यूटी अथवा टीएलआर केओ माइस और सिरियम हैम्स्टर्स को संक्रमित करने और विभिन्न समय बिंदुओं पर महत्वपूर्ण अंगों जैसे वृक्क, यकृत और फेफड़ों में प्रतिरक्षा प्रतिक्रिया का विश्लेषण करने की योजना बना रहे हैं। इस आंकड़े से लेप्टोस्पाइरा प्रतिरक्षी बचाव कार्यनीति और उस तंत्र को समझने में मदद मिल सकती है जिसके द्वारा लेप्टोस्पाइरा संक्रमण से अंग काम करना बंद करते हैं।

सारांश

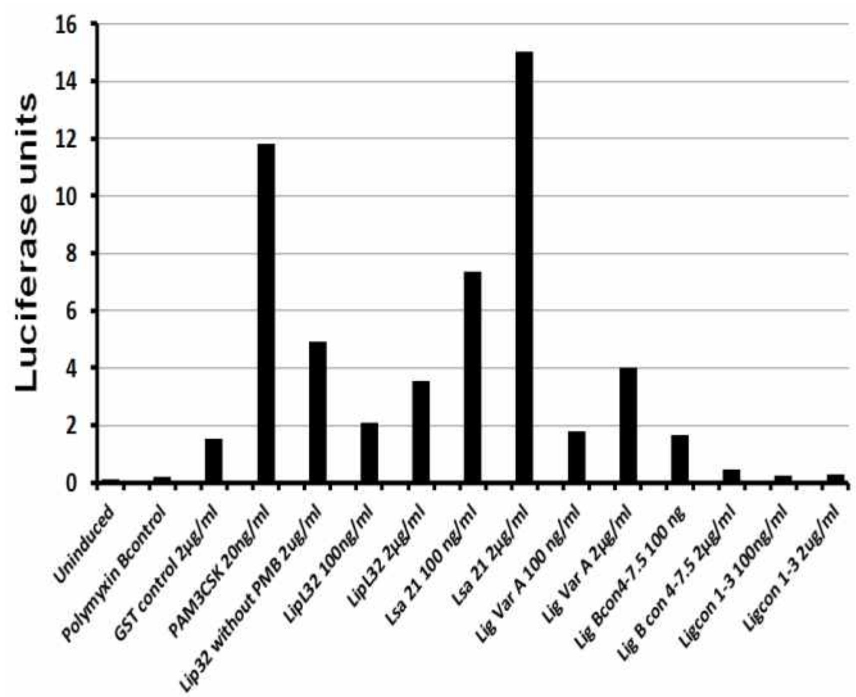
हमने लेप्टोस्पाइरा के कई बाहरी झिल्ली प्रोटीनों का क्लोन बनाया है और अभिव्यक्त किया है और एचईके 293 कोशिकाओं पर उनकी टीएलआर क्रियाविधि की जांच की है। इनमें से एलएसए 21 में प्रबल टीएलआर क्रियाविधि दिखाई दी है। हम टीएचपी–1, आरएडब्ल्यू 264 कोशिका लाइनों और कोशिका द्रव्य उत्पादन (आईएल–6, टीएनएफ–ए, आईएल1बी) के संबंध में माउस डीसी/वृहदभक्षिका कोशिकाओं और कॉस्टिम्यूलेटरी अणुओं (सीडी80, सीडी 86, एमएचसी 2) की अभिव्यक्ति की अभिव्यक्ति में टीएलआर आश्रित मार्ग को सक्रिय करने की इसकी क्षमता के लिए इस प्रोटीन का विश्लेषण कर रहे हैं।



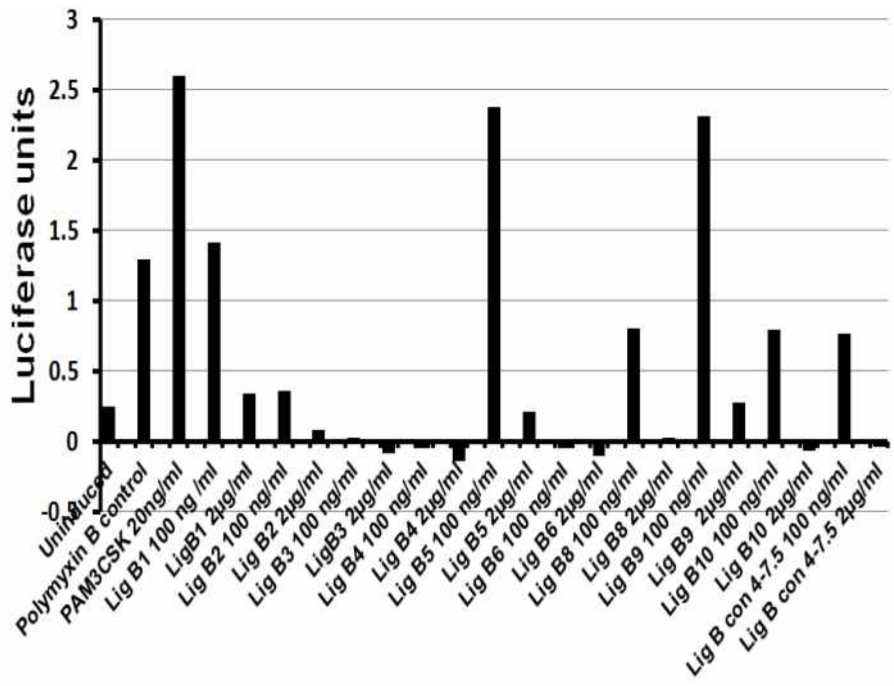
चित्र 1. लेप्टोस्पाइरा के जीएसटी संयुक्त बाहरी झिल्ली प्रोटीनों/ सतही प्रोटीनों का शुद्धीकरण। ओएमपी जीनों को पीजीईएक्स4टी2 रोगवाहक में क्लोन बनाया गया और ई. कोलाई में अभिव्यक्त किया गया, जिसे जीएसटी आगारोज कॉलमों के जरिए शुद्ध किया गया और एसडीएस–पीएजीई विश्लेषण किया गया। (क) लिप एल 32 (ख) एलएसए 21 (ग) लिग ए (लिगएवार) का चर क्षेत्र (घ) जीएसटी। आण्विक भार मार्करों का दायीं ओर उल्लेख किया गया है।



चित्र 2. लेप्टोस्पाइरा इम्यूनोग्लोब्यूलिन जैसे प्रोटीन (लिग ए और लिग बी) के विभिन्न डोमेनों का शुद्धीकरण। पीजीईएक्स4टी2 रोगवाहक में लिग ए और लिग बी का क्लोन बनाया गया और ई. कोलाई में अभिव्यक्त किया गया, जिसे जीएसटी आगारोज कॉलमों के जरिये शुद्ध किया गया और एसडीएस–पीएजीई विश्लेषण किया गया। (क) लिगकॉन 4–7.5 (ख) लिगबीकॉन 1–3 (ग) लिग बी के डोमेन 3 और 5 (घ) लिग बी के डोमेन (बी1, बी2, बी3, बी4, बी5, बी6, बी7, बी8, बी9 और बी10)। आण्विक भार मार्करों का दायीं ओर उल्लेख किया गया है।



चित्र 3. लेप्टोस्पाइरा आमापन द्वारा परीक्षित एचईके 293 कोशिका लाइनों पर विभिन्न लेप्टोस्पाइरा बाहरी झिल्ली/सतही प्रोटीनों की टीएलआर क्रियाविधि। लिपोफेक्टोमाइन का उपयोग करते हुए एचईके 293 कोशिकाओं को टीएलआर2 और एनएफकेबी रिपोर्टर प्लाज्मिड से ट्रांसफेक्ट किया गया। कोशिकाओं को 100 एनजी/एमएल और 2 यूजी/एमएल के सांद्रण पर विभिन्न प्रोटीनों (लिप एल32, लिग एवार, एलएसए21, लिगकॉन 1–3 और लिगकॉन 4–7.5) के साथ उद्दीपित किया गया था। पीएएम3सीएसके को सकारात्मक नियंत्रण एवं जीएसटी को ऋणात्मक नियंत्रण के रूप में प्रयुक्त किया गया था। एलपीएस को संदूषित करने की क्रियाविधि को बाधित करने के लिए पोलीमिक्सिन बी का उपयोग किया गया था।



चित्र 4. लेप्टोस्पाइरा आमापन द्वारा परीक्षित एचईके 293 कोशिका लाइनों पर लेप्टोस्पाइरा इम्यूनोग्लोब्यूलिन जैसे प्रोटीन (लिग प्रोटीन) के विभिन्न डोमेनों की टीएलआर2 क्रियाविधि। एचईके 293 कोशिकाओं को टीएलआर2 कोशिकाओं के साथ ट्रांसफेक्ट किया गया और इन्हें लिग प्रोटीनों के विभिन्न डोमेनों (बी1, बी2, बी3, बी4, बी5, बी6, बी7, बी8, बी9 और बी10) के साथ 100 एनजी / एमएल और 2 यूजी / ए3एल पर उद्दीपित किया गया। पीएएम3सीएसके को सकारात्मक नियंत्रण एवं जीएसटी को ऋणात्मक नियंत्रण के रूप में प्रयुक्त किया गया था। एलपीएस को संदूषित करने की क्रियाविधि को बाधित करने के लिए पोलीमिक्सिन बी का उपयोग किया गया था।

वायरल रोग

पक्षियों के लिए प्रभावी टीके तैयार करने के लिए न्यू कैसल रोग वायरस संबंधी पोषद रोगजनक अंतःक्रिया अध्ययन

प्रमुख अन्वेषक :	माधुरी सुब्बैया	वैज्ञानिक सी
प्रयोगशाला सदस्य :	नवीन गुज्जर	परियोजना अध्येता
	हेमंत कुमार कर्नाटी	परियोजना अध्येता (अगस्त, 2014 तक)
	सारस्वती अय्यर	परियोजना अध्येता (नवंबर, 2014 से वर्तमान तक)
	भुवन चेरूकुपल्ले	एसवी विश्वविद्यालय से पीएचडी का विद्यार्थी (जनवरी, 2014 से दिसंबर, 2014 तक)
सहयोगकर्ता	रवि कुमार गुट्टी, यूओएच, हैदराबाद, भारत	
	कुमानन कथियापेरूमल, एमवीसी, टेनूवस, चैन्नई, भारत	
	सुरेश कुचिपुडी, नॉटिंघम विश्वविद्यालय, यूके	
	पृथ्वीराज, ग्लोबियन प्राइवेट लि. हैदराबाद, भारत	
	टी. आर. कन्नकी, कुक्कुट अनुसंधान निदेशालय, हैदराबाद, भारत	
	एम. आर. रेड्डी, कुक्कुट अनुसंधान निदेशालय, हैदराबाद, भारत	

उद्देश्य

एवुल वायरस वंश में एवियन पैराम्विक्सोवायरस (एपीएमवी) शामिल हैं। प्रोटोटाइप एपीएमवी–1 अथवा न्यू कैसल डिजीज वायरस (एनडीवी) से चूजों में अत्यधिक संक्रामक श्वसन, तंत्रिका अथवा आंत्र रोग होता है। एनडीवी के प्रकोप से कुक्कुट उद्योगों को भारी आर्थिक नुकसान हुआ है। विकृति (उत्पादकता में कमी) और मर्त्यता (संक्रमित पक्षियों की मृत्यु) वायरस के उपभेद और पोषद प्रजातियों की सुग्राह्यता पर निर्भर करती है। उग्र एनडीवी उपभेदों से संक्रमित चूजों में विकृति 100 प्रतिशत और मृत्यु दर 90 प्रतिशत तक है। 2006 और 2009 के बीच, प्रभावित देशों की संख्या को देखते हुए एनडी का स्थान सभी पशु धन रोगों में दूसरा है। (डेव. एण्ड कंप्यू. इम्युनोल 2013, 41, 447– 453)। एनडीवी का नियंत्रण काफी हद तक सुरक्षित और प्रभावी टीकों के नियमित उपयोग पर निर्भर करता है। भारत में, केवल एनडीवी के लिए टीके की सालाना बिक्री 44 मिलियन अमेरिकी डॉलर से अधिक है। (जीएएलवी मेड रिपोर्ट, 2011)। वर्तमान में, टीकाकरण के लिए एनडीवी के जीवित कमजोर और मेसोजेनिक उपभेदों का उपयोग किया जाता है। जीवित उपभेदों वाली टीके की उपलब्धता के बावजूद, टीके का विफल होना एक आम बात है। इसका एक मुख्य कारण उग्र क्षेत्र उपभेद के खिलाफ टीका उपभेद की गैर–सुरक्षात्मक प्रकृति है। इस मुद्दे के समाधान के लिए, मेरी प्रयोगशाला में एनडीवी हेतु प्रतिवर्ती आनुवंशिक प्रणाली स्थापित करने पर फोकस किया गया है। इस प्रणाली का उपयोग पक्षियों के रोगजनकों के खिलाफ ओवीओ प्रदायगी योग्य टीके में प्रभावी तापस्थिर और बहुतुल्य टीका तैयार करने के अंतिम लक्ष्य से वायरल जीवविज्ञान और पोषद रोगजनक में अंतःक्रिया को समझना है। हम वर्तमान में मेसोजेनिक वैक्सीनल उपभेद कोमारोव पर काम कर रहे हैं। रोगजनकता के आधार पर, एनडीवी उपभेदों को लेंटोजेनिक अथवा अनुग्र, मेसोजेनिक अथवा कम उग्र और वेलोजेनिक अथवा उग्र उपभेदों में वर्गीकृत किया गया है। हालांकि अधिकांश जीवित उपभेदों वाली टीके लेंटोजेनिक उपभेदों से व्युत्पन्न हैं, कुछ मेसोजेनिक उपभेदों का टीके के रूप में उपयोग किया गया है। कोमारोव, मेसोजेनिक एनडीवी उपभेद का उदाहरण है जिसका उपयोग जीवित उपभेद के रूप,

लेंटोजेनिक टीके से प्रथम टीकाकरण के बाद द्वितीयक टीके के तौर पर और 4 सप्ताह से अधिक के चूजों में प्रयुक्त किया जाता है। कोमारोव उपभेद एक फील्ड आइसोलेट (1946 में फिलीस्तीन से) है जिसे चूजों में क्रमिक अंतः प्रमस्तिष्क मार्ग द्वारा परिवर्तित किया गया। हालांकि, इस उपभेद के टीके के रूप में लंबे समय से उपयोग किया जाता रहा है, इसके जीव विज्ञान के बारे में अभी तक केवल आंशिक जीनोम अनुक्रम की रिपोर्ट ही उपलब्ध है। निम्नलिखित प्रमुख उद्देश्यों से अनुसंधान कार्य किया जा रहा है :

(I) एनडीवी उपभेद कुमारोव का लक्षण निर्धारण।

(ii) सक्षम बहुतुल्य टीके के लिए रोगवाहक प्रणाली विकसित करने के लिए एनडीवी उपभेद कुमारोव के लिए प्रतिवर्ती आनुवंशिक प्रणाली स्थापित करना।

(iii) विषाणु जीव विज्ञान और पोषद – रोगजनक प्रतिक्रियाओं में गैर–संरचनात्मक विषाणु प्रोटीन (डब्ल्यू) की भूमिका को समझना।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (31 मार्च, 2014 तक)

परियोजना 1 : एनडीवी उपभेद कुमारोव का पूर्ण जीनोम अनुक्रमण

वीबीआरआई, हैदराबाद से प्राप्त एनडीवी टीका उपभेद, कुमारोव का जीव– विज्ञानी और आण्विक विधियों का उपयोग करते हुए लक्षण– निर्धारण किया गया है। चिरसम्मत विधि द्वारा वायरल जीनोम का पूर्ण अनुक्रमण किया गया है और आरएनए अनुक्रमण आंकड़ों का उपयोग करते हुए इन्हें औचित्यपूर्ण ठहराया गया है। ट्राइज़ोल विधि द्वारा संक्रमित अपरापोषिक तरल से वायरल आरएनए को पृथक किया गया था। चिरसम्मत विधि द्वारा वायरल जीनोम का अनुक्रमण किया गया और सर्वसम्मति प्राइमर के उपयोग द्वारा जीनों का प्रवर्धन किया गया। संदर्भ एनडीवी जीनोम के साथ अनुक्रमित क्षेत्रों को संरेखित किया गया। अंतरालों को पाटने के लिए बनाए गए अतिव्यापक प्राइमरों के उपयोग से कोटिंग्स के बीच अंतरालों को भरा गया था। 3′ रेस और 5′ रेस विधि द्वारा जीनोमिक टर्मिनल का अनुक्रमण किया गया था। नेक्स्ट जनरेशन अनुक्रमण विधि के लिए, वायरल आरएनए को द्रुतअपकेंद्रण से प्राप्त शुद्धिकृत वायरस से पृथक किया गया था और इल्युमिना नेक्स्टसेक. 500 का उपयोग कर आरएनए को अनुक्रमण किया गया। हमने पाया कि पूर्ण वायरल जीनोम लंबाई 15,186 न्यूक्लिओटाइड (एनटी) है और यह 'छह के नियम' का अनुसरण करती है। जातिवृत्तिक विश्लेशण से जीनोटाइप 2 एनडीवी उपभेदों वाले उपभेद कोमारोव के समुच्चयन के बारे में पता चलता है।

परियोजना 2 : प्रतिवर्ती आनुवंशिकी प्रणाली के लिए पूर्ण लंबाई वाले क्लोन की रचना करना

प्रतिवर्ती आनुवंशिकी प्रणाली की स्थापना करने के लिए पूर्ण लंबाई वाले क्लोन की रचना करने के लिए अनुक्रमण आंकड़ों का उपयोग किया गया है।

परियोजना 3 :

विषाणुओं को अपने संहत जीनोम का प्रभावशाली तरीके से उपयोग करने के लिए जाना जाता है। उदाहरणार्थ, पैरामिक्सोवायरस, सह–अनुलेखन संपादन द्वारा गैर–संरचनात्मक (एनएस) प्रोटीनों को अभिव्यक्त करते हैं। ये एनएस प्रोटीन न तो विशेश जीन अनुक्रमों द्वारा कोडित होते हैं और न ही वायरिऑन में बंद होते हैं कितु तब अभिव्यक्त होते हैं जब वायरस पोषद कोशिका में सक्रिय रूप से प्रतिकृति करते हैं। इससे वायरल प्रतिकृति, पोषद की प्रतिरक्षा से बचाव और / अथवा रोगजनकता में उनकी संभावित भूमिका से अभिप्रेत है। एनडीवी के आरएनए जीनोम में छह संरचनागत प्रोटीनों के लिए छह जीन कोडिंग होती हैं। इनके अलावा, एनडीवी, पोलीमरेज हकलन तंत्र द्वारा पी जीनोम के सह–अनुलेखन ($_{\text{सूक्ष्म}}$आरएनए) द्वारा दो एनएस प्रोटीनों, वी और डब्ल्यू को अभिव्यक्त करता है। एकल जी अपशिष्ट अंतर्वेशन से वी प्रोटीन बनता है और दो जी अपशिष्टों के अंतर्वेशन से डब्ल्यू प्रोटीन प्राप्त होता है। इन दो एनएस प्रोटीनों में पी प्रोटीन वाला साझा एन–टर्मिनल क्षेत्र होता है और सह उनके सी–टर्मिनल सिरों पर भिन्न होता है। एनडीवी उत्परिवर्तनों में, वी और डब्ल्यू, प्रोटीन, दोनों नहीं होते अथवा कोशिका संवर्धन में कम संतति वायरस पराभव के लिए वी प्रोटीन में केवल कार्बोक्सील टर्मिनल का अभाव दर्शाया गया है, 9–10 दिन के भ्रूणित चूजों के अंडों में प्रगुणित नहीं कर सके और अंतर्जीव दुर्बल थे। तथापि, इन अध्ययनों में डब्ल्यू प्रोटीन के कार्यों का उल्लेख नहीं किया गया है। ऐसा काफी हद तक विशेश रूप से डब्ल्यू प्रोटीन के लिए किसी उपागम के न होने की वजह से है। हम वर्तमान में डब्ल्यू प्रोटीन की संभावित भूमिका(ओं) का स्पश्ट करने और निम्नलिखित प्रश्नों के उत्तर देने के लिए आरएनए$_{\text{आई}}$ तकनीक के उपयोग पर विचार कर रहे हैं :

(i) एनडीवी, डब्ल्यू प्रोटीन को केवल वायरल संक्रमण के दौरान ही क्यों अभिव्यक्त करता है? और

(ii) क्या पोषद प्रतिरक्षा प्रतिक्रिया अथवा रोगजनकता से बचने के लिए डब्ल्यू $_{\text{सूक्ष्म}}$आरएनए और/अथवा डब्ल्यू प्रोटीन वायरल प्रतिकृति और अनुलेखन के लिए एक प्रमुख कारक हो सकता है?

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

परियोजना 1 : एनडीवी उपभेद कोमारोव का पूर्ण जीनोम अनुक्रमण

चिरसम्मत आरटी–पीसीआर और रेस तकनीकों के उपयोग से एनडीवी उपभेद कोमारोव का पूर्ण अनुक्रमण किया गया था। सुक्रोज प्रवणता अपकेंद्रण के उपयोग से वायरस का शुद्धिकरण किया गया और आरएनए$_{\text{एसईक्यू}}$ के लिए आरएनए भेजा गया। आरएनए$_{\text{एसईक्यू}}$ द्वारा एकत्र आंकड़ों की चिरसम्मत अनुक्रमण आंकड़ों के साथ तुलना की गई और अनुक्रमण की और अधिक पुष्टि की गई। एनडीवी उपभेद कोमारोव की कुल लंबाई 15,816 न्यूक्लिओटाइड (एनटी) है। यह 'छह के नियम' का अनुसरण करती है, जीन कैसेट के किसी भी तरफ संरक्षित 'जीन स्टार्ट' और 'जीन एंड' अनुक्रमों के साथ छह जीन क्रम से टेंडम में व्यवस्थित हैं। जीनों को

विशेष अंतःजन्य अनुक्रमों द्वारा एक–दूसरे से पृथक किया जाता है। अग्रणी अनुक्रम की लंबाई 54 न्यूक्लिओटाइड है जबकि पिछले अनुक्रम की लंबाई 114 एनटी है। निम्नलिखित मुख्य विशेषताएं देखी गईं :

* एन–एन स्व– समूहन के लिए एमिनो एसिड अनुक्रम आकृति : [322]एफएपीएईवायएक्यूएलवायएसएफएएमजी[336]

* पी जीन एडिट अनुक्रम : [2280]एएएएएजीजीजी[2287]

* वी प्रोटीनः सी टर्मिनल हिस्से में 7 सिस्टीन अपशिष्ट जो जिंग– फिंगर जैसी आकृति के सदृश होते हैं ………………….TTISWCNPSCSPIKAEPRQYPCICGSCPATCRLCASDDVYDGGNITESK

* एफ विदलन साइट [112]आरआरक्यूकेआर एफ[117] – एफ1 उप– इकाई के आरंभ में मल्टीबेसिक एमिनो एसिड अपशिष्ट और फेनिलालेनिन। * सियालिक एसिड बंधन साइट : [234]एनआरकेएससीएस[239]और संभावित पूर्वकथित एन–संबद्ध ग्लाइकोसिलेशन साइट : एन119, एन341, एन433, एन481 और एन538

* एल डोमेन 3 के भीतर संरक्षित अनुलेख गतिविधि की आकृति : [750]जीडीएनक्यू[753]

परियोजना 2 : प्रतिवर्ती जेनेटिक्स प्रणाली के लिए पूर्ण लंबाई के क्लोन की रचना

एपीई और डीएनएएसटीएआर सॉफ्टवेयर द्वारा एनडीवी उपभेद कोमारोव के पूर्ण लंबाई वाले क्लोन की रचना के लिए अनुक्रम आंकड़ों का उपयोग किया जा रहा है। इसके अलावा, स्तनपाई अभिव्यक्ति वाले रोगवाहों में सपोर्ट प्लास्मिड्स एन, पी और एल का क्लोन भी बनाया जा रहा है। प्रतिवर्ती जेनेटिक्स द्वारा पुनर्संयोजी विषाणु को पुनः प्राप्त करने के लिए पूर्ण लंबाई वाले क्लोन और सपोर्ट प्लास्मिड्स का उपयोग किया जाएगा।

परियोजना 3 : विषाणु जीव विज्ञान और पोषद– रोगजनक प्रतिक्रियाओं में गैर–संरचनात्मक विषाणु प्रोटीन, डब्ल्यू की भूमिका को स्पष्ट करना

अनुक्रमण आंकड़ों के विश्लेषण के आधार पर, पी, वी और डब्ल्यू जीन और प्रोटीन अनुक्रमों पर टीका की गई। इन प्रोटीनों के ओआरएफ को अभिव्यक्ति अध्ययनों के लिए $_{पी}$ईवायएफपी/जीएफपी में क्लोन बनाया जा रहा है। आरंभिक उपाय के तौर पर, आरएनए$_{आई}$ अध्ययनों की ओर अग्रसर होने से पूर्व कोशिकीय कोष्ठकों के भीतर इन प्रोटीनों के स्थानीयकरण का अध्ययन किया जाएगा।

सारांश

हमने एनडीवी उपभेद कोमारोव के पूर्ण जीनोम का अनुक्रमण पूरा कर लिया है जो पुनर्संयोजी विषाणु को मुक्त कराने के लिए प्रतिवर्ती जेनेटिक्स प्रणाली स्थापित करने के लिए मूल्यवान है। इस प्रणाली का उपयोग प्रभावी मल्टीवेलेंट इन ओवीओ प्रदायगी योग्य कुक्कुट टीका विकसित करने के लिए किया जाएगा। इसके अलावा, पोषद– विषाणु अंतःक्रिया में गैर– संरचनागत वायरल प्रोटीन डब्ल्यू की भूमिका को समझने के लिए भी अध्ययन किए जा रहे हैं।

प्रकाशन :

1. कर्नाटी एच के, पासुपुलेटी एस आर, कांडी आर, उंडी आरबी, साहू आई, कन्नाकी टी आर, सुब्बिया एम, गुट्टी आर के (2015)। टीएलआर–4 सिग्नलिंग पाथवे : मायडी 88 इंडिपेंडेंट पाथवे अप–रेग्युलेशन इन चिकन ब्रीड्स अपॉन एलपीएस ट्रीटमेंट. वेट रेस कम्यून 39: 73 –78.

पीपीआर और एफएमडी अनुसंधान

प्रमुख अन्वेषक :	सत्या परिदा	एनआईएबी अतिथि संकाय
सहयोगकर्ता :	डॉ. दिनकर राज	टीएएनयूवीएएस, चेन्नई
	प्रो. परिमल रॉय	टीएएनयूवीएएस, चेन्नई
	डॉ. आर. पी. सिंह	आईवीआरआई, बरेली
	डॉ मुथु चेलवन	आईवीआरआई, मुक्तेश्वर
	डॉ. हनुमंत राव	वीबीआरआई, हैदराबाद
	डॉ. कृष्णा ज्योति	वीबीआरआई, हैदराबाद
	डॉ. गिरिश राधाकृष्णन	एनआईएबी, हैदराबाद
	डॉ. अपर्णा राचमल्लू	एनआईएबी, हैदराबाद
	डॉ. बी. पट्नाइक	पीडीएफएमडी, मुक्तेश्वर
	डॉ. मदन मोहन	आईआईएल, हैदराबाद

उद्देश्य :

हमारे अनुसंधान का फोकस मार्कर टीकों का विकास और वैधकरण और जांच की तीन विधियों से एफएमडी एवं पीपीआर के लिए आण्विक लक्षण निर्धारण सहित संबंधित निदान : (1) प्रतिरक्षी प्रतिक्रिया के उन पहलुओं की हमारी समझ में सुधार करना जो तीव्र और निरंतर संक्रमण के खिलाफ टीका प्राप्त पशुओं की सुरक्षा में महत्वपूर्ण हैं; (2) टीका प्राप्त पशुओं में संक्रमण का पता लगाने के वैकल्पिक साधन विकसित करना और इसके कारण अभिकर्मकों का आण्विक लक्षण – निर्धारण; और (3) एफएमडी और पीपीआर के लिए उन्नत मार्कर टीका (अर्थात टीका प्राप्त पशुओं से संक्रमित पशुओं में अंतर करने वाला टीका) तैयार करना और उनका मूल्यांकन करना। मार्कर टीका संक्रमित पशुओं और टीका प्राप्त पशुओं के बीच अंतर बताता है, जो पशुधन को प्रभावित करने वाले रोग के प्रकोप को नियंत्रित करने के लिए विशेष महत्वपूर्ण है।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

परियोजना 1 : पीपीआरवी का उद्भव और आण्विक विकास

पेस्ट डेस पेटिस रूमिनेंटस वायरस (पीपीआरवी) के खिलाफ सुरक्षित और प्रभावी टीकों के बावजूद, यह वायरस काफी अधिक संक्रामक बीमारी के कारण के रूप में उभरा है जिसके एशिया, मध्य पूर्व और अफ्रीका में छोटी रोमंथी कृषि के लिए गंभीर आर्थिक परिणाम हुए हैं। हमने पहली बार, इथियोपिया से 1994 में, 1983 में ओमान, 1986 में यूएई और 2012 में यूगांडा से वंशावली 3 पीपीआरवी आईसोलेट्स के पूर्ण जीनोम का अनुक्रम बनाया ताकि हम पीपीआरवी के विकासात्मक और रोगप्रकोपी गतिकी की जांच करने के लिए सभी 4 वंशावलियों के पूर्ण जीनोम अनुक्रमों का उपयोग कर सकें। सभी पीपीआरवी वंशावलियों के बेसियन फाइलोजेनिटिक विश्लेषण ने हाल ही के सबसे आम पूर्वज और 20वीं सदी के आरंभ में वंशज 3 आइसोलेट के पीपीआरवी के आरंभिक अपसरण का मानचित्रण किया (चित्र 1)। फाइलोजियोग्राफिक (जाति भौगोलिक) उपागम से पैतृक पीपीआरवी के मूल स्थान की संभाव्यता का अनुमान लगाया और पीपीआवी के लिए नाइजीरिया, वंशज 1 के लिए सिनेगल, वंशज 2 के लिए नाइजीरिया/घाना, वंशज 3 के लिए सूडान और वंशज 4 के लिए भारत के रूप में एकल वंशज अनुमानित हैं (चित्र 2)। विषाणु के विकास को समझने के लिए प्रतिस्थापन दरें, महत्वपूर्ण मानदंड हैं क्योंकि आनुवंशिक परिवर्तन में निर्बंधन निम्न अनुकूलता और रोगजनकता की ओर ले जा सकते हैं। पीपीआरवी पूर्ण जीनोम की औसत विकासात्मक प्रतिस्थापन दर 9.09×10^{-4} अनुमानित थी। यह पाण्डुलिपि इमरजिंग एण्ड इंफेक्शियस डिसीसेज में प्रकाशित की गई है।

परियोजना 2 : नई पीढ़ी के सह–औषध मिलाकर एफएमडी टीका की रोगप्रतिरक्षा में सुधार करना

इंडियन इम्यूनोलॉजिकल्स लिमिटेड, हैदराबाद की बीएसएल3+ सुविधा में पशु में एफएमडी प्रतिजन + आईएसए 206 (तेल) की सामान्य खुराक के आधे के साथ आठ नई सह औषधों; अबिस्को300, सीपीजी, आईएसए206, पॉली आई:सी, इमिक्वीमोद, एमपीएलए, लिपोसोम और आईएसए 70, की जांच की गई। इनमें से एक में मौजूदा टीके की रोगप्रतिरक्षा (देहद्रवी और कोशिका

माध्यित, दोनों) में सुधार हुआ और इससे उग्र एफएमडी वायरस की चुनौती से पूरी सुरक्षा मिली (चित्र 3)। पांडुलिपि का मसौदा तैयार कर लिया गया है और शीघ्र ही इसे एंटीवायरल रिसर्च पत्रिका में पेश किया जाएगा।

परियोजना 3 : पूर्वोत्तर भारत के त्रिपुरा राज्य की भारत–बंगलादेश सीमा में प्रकोप से आइसोलेटेड पेस्ट – डीईएस – पेटिट्स रुमिनेंट्स वायरस (पीपीआरवी) का आण्विक लक्षण निर्धारण

पूर्वोत्तर भारत के त्रिपूरा राज्य की भारत–बंग्लादेश सीमा में आईवीआरआई, मुक्तेश्वर में हमारे सहयोगी के नेतृत्व में सीरम–सर्वेक्षण में जुडते हुए हमने प्रकोप विषाणुओं का अनुक्रमण किया और जातिवृत्तिक विश्लेषण कर, हमने पीपीआरवी के बांग्लादेश और भारत के बीच सीमापार संचरण का निदर्शन किया। यह कार्य वेटेरिनरी माइक्रोबायोलॉजी में प्रकाशित किया गया है।

परियोजना 4 : बकरियों और अन्य प्रजातियों की विभिन्न नस्लों में पीपीआरवी की आनुवंशिक प्रतिरोध का अध्ययन : बकरियों और पानी में रहने वाली भैंस में पेस्ट – डीईएस – पेटिट्स रुमिनेंट्स वायरस (पीपीआरवी) के प्रति टोल–लाइक रिसेप्टर प्रतिक्रियाएं

यह टीएएनयूीवएएस एनआईएबी और यूके साझेदारों के बीच, डीबीटी–बीबीएसआरसी वित्तपोशित परियोजना का भाग है। विभिन्न नस्लें और पानी में रहने वाली भैंस के बीच पीपीआर के प्रति सुग्राह्यता में अंतर है। पोषद नैसर्गिक प्रतिरक्षा प्रणाली, निगरानी ग्राहियों, जिन्हें टोल लाइक रिसेप्टर्स (टीएलआर) के नाम से जाना जाता है, के जरिए रोगजनक संबद्ध आण्विक पैटर्नों और स्व–प्रतिजनों के बीच अंतर करती है। हमने पीपीआरवी के प्रति बकरी की नस्लों और पानी में रहने वाली भैंस की विभेदक सुग्राहयता में टीएलआर और कोशिका द्रव्यों की भूमिका की जांच की। हमने भारतीय घरेलू बकरियों और पानी में रहने वाली भैंस के परिसरिय रक्त एक नाभिकीय कोशिकाओं (पीबीएमसी) में पीपीआरवी की प्रतिकृति की जांच की और यह दर्शाया कि टीएलआर 3 और टीएलआर 7 के स्तरों और डाउनस्ट्रीम संकेतन अणुओं का सुग्राह्यता और प्रतिरोध से सहसंबंध है (चित्र 4)। प्राकृतिक सुग्राह्य बकरी की नस्लों, बारबरी और तेलीचेरी में पीपीआरवी के प्रति नैसर्गिक प्रतिरक्षा प्रतिक्रिया धीमी हो गई थी और विषाणु के भारण में वृद्धि हो गई थी, टीएलआर के निचले आधार अभिव्यक्ति स्तर 3/7 थे। संश्लिश्ट टीएलआर 3 और टीएलआर 7 प्रचालक अथवा पीपीआरवी के साथ पीबीएमसी का उद्दीपन होने पर, शोथज से पूर्व कोशिका द्रव्य काफी अधिक थे जबकि पीपीआरवी प्रतिरोधी कन्नी और सलेम ब्लैक नस्लों में प्रतिरक्षा दमनकारी इंटरल्यूकिन (आईएल) 10 स्तर कमतर थे और अनुलेखन स्तर पर पानी में रहने वाली भैंस, संक्रमित पीबीएमसी में कम विषाणु भारण के साथ सह संबद्ध थी। पानी में रहने वाली भैंस ने बकरियों की तुलना में अनुलेखन और स्थानांतरण स्तरों में उच्चतर इनफेरॉन (आईएफएन) अल्फा स्तर प्रस्तुत किए। मानव आईएफएन अल्फा के साथ वीरो कोशिकाओं के पूर्व शोधन से पीपीआरवी की प्रतिकृति में कमी हुई जिससे पीपीआरवी की प्रतिकृति को सीमित करने में आईएफएन अल्फा की भूमिका की पुष्टि होती है। आईआरएस66, एक टीएलआर 7 प्रतिरोध के उपचार से आईएफएन अल्फा स्तरों में कमी आई और साथ ही पीपीआरवी की प्रतिकृति में वृद्धि हुई जिससे टीएलआर 7 की भूमिका की पुष्टि होती है। बकरियों की इन नस्लों के एकल न्यूक्लिओटाइड बहुरूपता विश्लेषण से ऐसा कोई विशेष न्यूक्लिओटाइड में अंतर दिखाई नहीं दिया जो पीपीआरवी की सुग्राहयता और प्रतिरोध का कारण हो सकता है। अन्य पोषद आनुवंशिकी कारकों के विश्लेषण से पीपीआरवी की सुग्राह्यता और पोषद में आनुवंशिकी बहुरूपता संबंधी अधिक जानकारी मिल सकती है।

परियोजना 5 : भारतीय पीपीआरवी टीके उपभेद सुंगरी 96 के लिए प्रतिवर्ती आनुवंशिकी तकनीकें स्थापित करना

यह भारतीय और यूके साझेदारों के बीच, डीबीटी–बीबीएसआरसी वित्तपोशित परियोजना का भाग है। सुंगरी 96 पीपीआरवी का पूर्ण जीनोम एकत्र कर लिया गया है और यह शीघ्र ही बचाव प्रयोगों के लिए तैयार है।

परियोजना 6 : पीपीआर वायरस का पता लगाने और पूर्ण जीनोग के अनुक्रमण के लिए वास्तविक समय आरटी–पीसीआर का विकास और मूल्यांकन

पीपीआर निदान के लिए एनआईएबी में वास्तविक समय आरटी– पीसीआर विकसित किया गया है और वीबीआरआई के सहयोग से कई क्षेत्र नमूनों का मूल्यांकन किया गया था।

इसी प्रकार, डॉ. परिमल रॉय, टीएएनयूवीएएस द्वारा क्षेत्र वायरस मुहैया कराए गए थे और एनजीएस का प्रयोग करते हुए पूर्ण जीनाम अनुक्रमण की आउटसोर्सिंग के लिए एनआईएबी में इनका प्रक्रमण किया गया था।

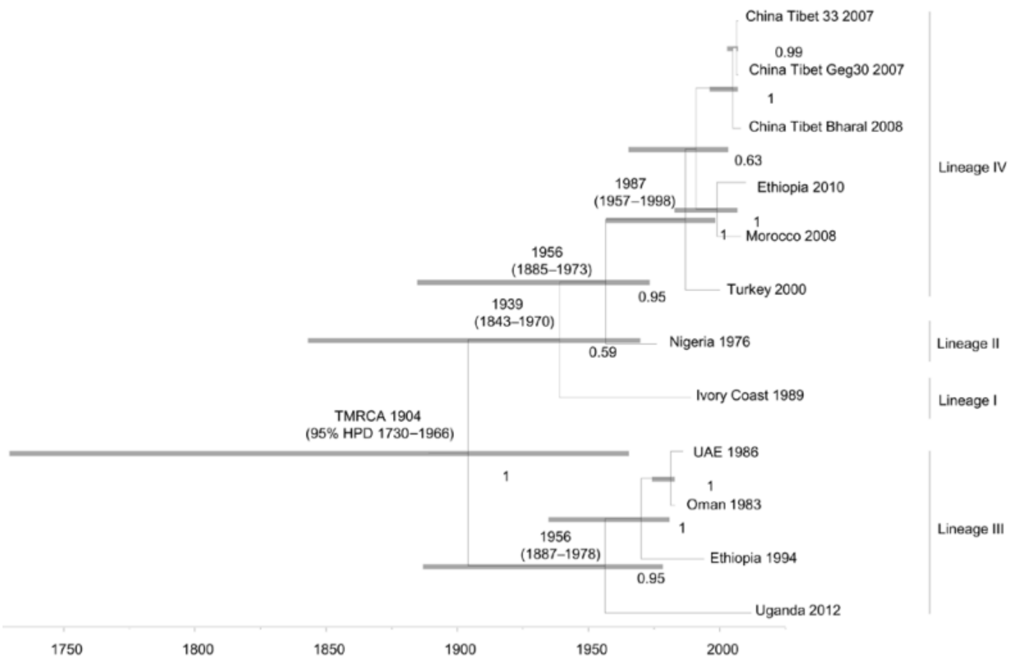
सारांश

हमने जेल आधारित पीसीआर, आरटी–पीसीआर, एलिसा और एनएसजी के लिए प्रयोगशाला प्रीप्रेशन्स के लिए एनआईएबी में पीपीआर प्रयोगशाला स्थापित की है। पीरब्राइट इंस्टीट्यूट, टीएएनयूवीएएस और आईवीआरआई के सहयोग से हम पहली बार पीपीआर वायरसों की सभी 4 वंशावलियों से पूर्ण जीनोम अनुक्रमों का प्रयोग करते हुए पीपीआरवी के आण्विक विकास का अध्ययन कर पाए हैं। टीएएनयूवीएएस के सहयोग से, हमने बकरियों की विभिन्न नस्लों और बड़े रोमंथियों में रोग प्रतिरोधक कारकों की जांच शुरू की है और हम यह दर्शाने में सक्षम रहे हैं कि पीपीआरवी विशिष्ट रिसेप्टर्स के आधार स्तरों के अजावा टीएलआर 3 के आधार स्तर महत्वपूर्ण भूमिका निभा रहा है जैसा पूर्व अध्ययनों में दिखाया गया है। भविष्य में डीबीटी–बीबीएसआरसी परियोजना में अन्य पोषद आनुवंशिकी कारकों के विश्लेषण से पीपीआरवी के प्रति सुग्राह्यता और पोषद में आनुवंशिकी बहुरूपता संबंध अधिक जानकारी मिल सकती है। एफएमडी टीके का प्रतिरक्षत्व को बढ़ाने के लिए, हमने मौजूदा टीके सूत्रों में विभिन्न नई पीढ़ी के औषध मिलाए हैं और हम यह निदर्शित कर सके कि इनमें से एक मौजूदा टीके के प्रतिरक्षात्व को बढ़ाने में काफी अधिक मददगार था और उग्र एफएमडी वायरस वाली चुनौती से पूर्ण सुरक्षा प्रदान की।

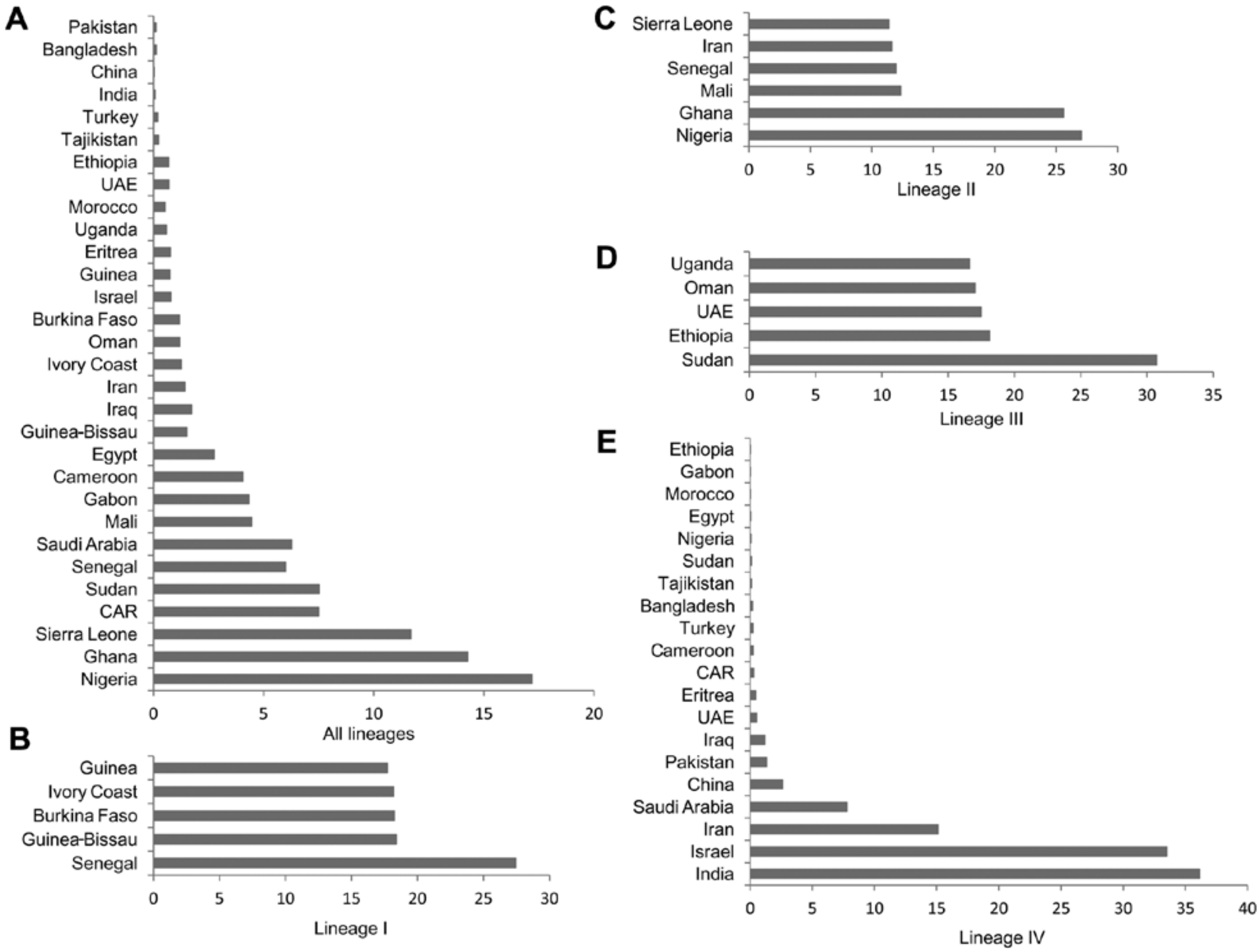
प्रकाशन

1. कुमार के. एस.', बाबू ए ', सुंदरपंडियन जी, रॉय पी., थांगावेलू ए, कुमार के. एस, अरूमुगम आर, चंद्रन एन.डी., मुनीराजू एम., महापात्रा एम, बनयार्ड एसी, मनोहर बी एम और परीदा एव (2014)। मॉलिक्यूलर कैरेक्टराइजेशन ऑफ लिनिएज IV पेस्टे डेस पेटिट्स रूमिनेंट्स वायरस यूजिंग मल्टी जीन सिक्वेंस डेटा। **वेटरीनरी माइक्रोबायोलॉजी 174 : 39–49.** (* समान योगदान)

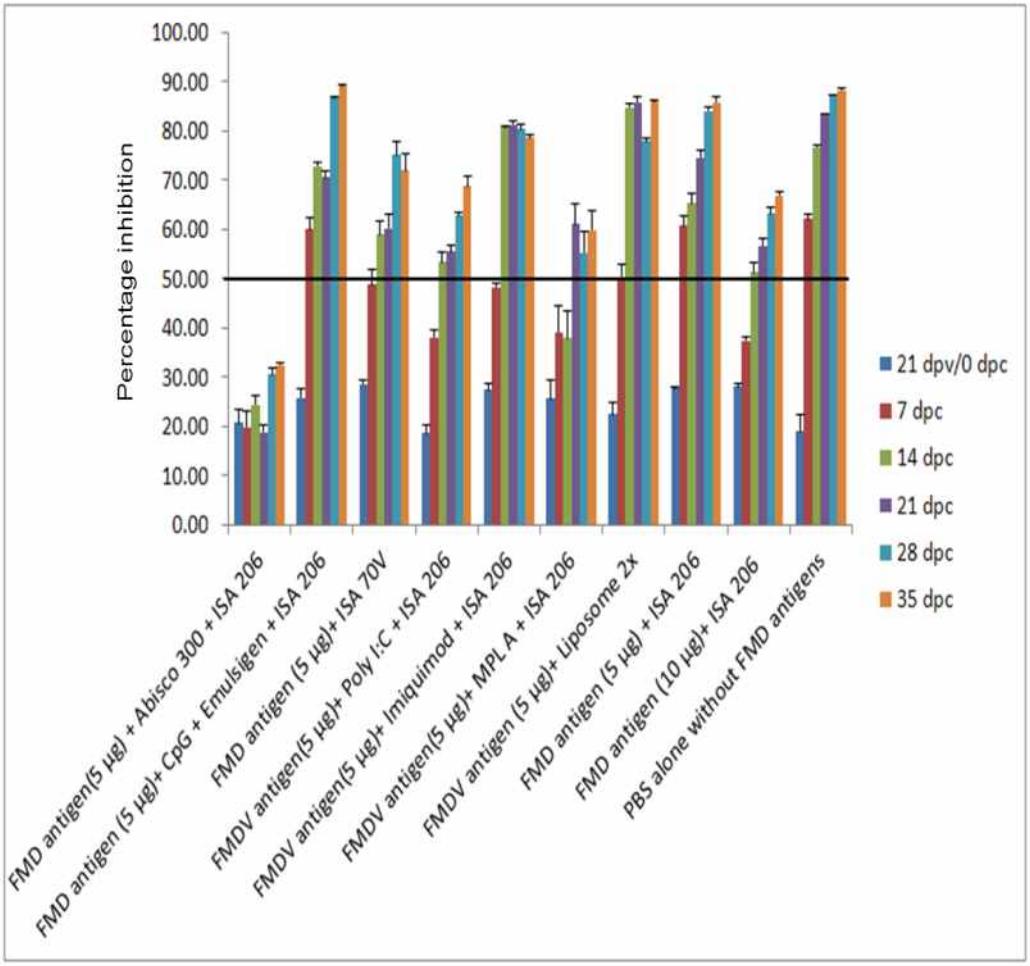
2. मुथुचेलवन डी, डी ए, देबनाथ बी, चौधरी डी, वेंकटेशन जी, रजक के के, सुधाकर एसबी, हिमाद्री डी, पांडे एबी और परीदा एस (2014)। पेस्टे डेस पेटिट्स रूमिनेंट्स वायरस (पीपीआरवी) आईसोलेटेड फ्रॉम एन आउटब्रेक इन दी इंडो–बंग्लादेश बॉर्डर ऑफ त्रिपुरा स्टेट ऑफ नॉर्थ–ईस्ट इंडिया। वेटरीनरी माइक्रोबायोलॉजी 174:591–595.



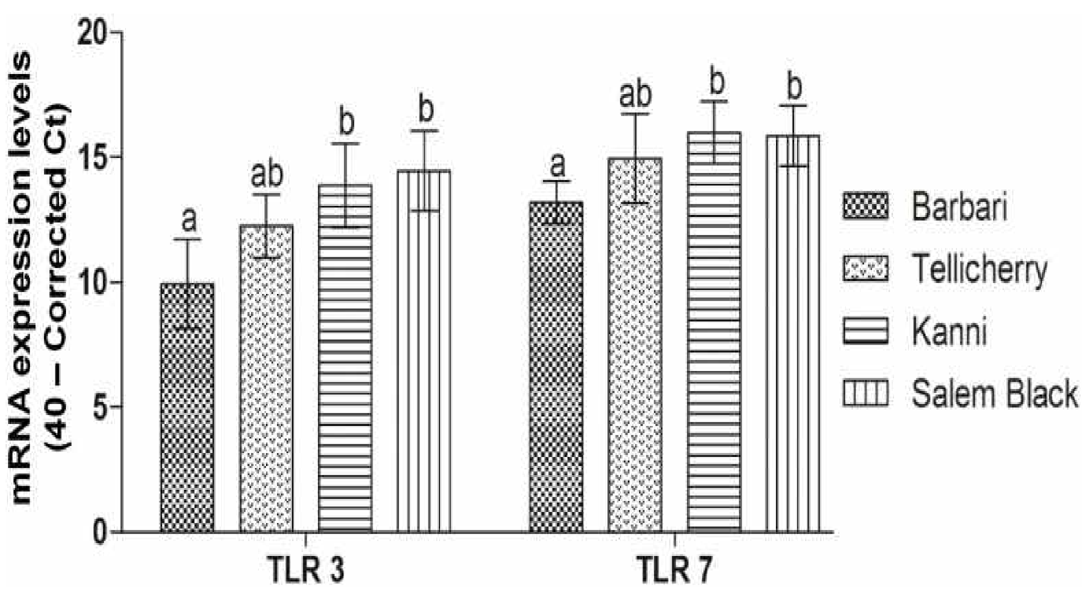
चित्र 1 : पेस्टे डेस पेटिट्स रूमिनेंट्स वायरस पूर्ण जीनोम अनुक्रमों पर आधारित टाइम स्केल वाला बेजियन अधिकतम क्लेड क्रेडिबिलिटी जातिवृत्त वृक्ष। वृक्ष की रचना, असहसंबंध चरघातांकी वितरण मॉडल और चरघातांकी वृक्ष प्रायर का उपयोग कर की गई थी। शाखा के सिरे संग्रहण की तारीख के सदृश है और शाखाओं की लंबाई व्यतीत समय को दर्शाती हैं। वृक्ष के पर्वों पर पश्च संभाव्यता मान और सर्वाधिक आम पूर्वज की समय की अनुमानित माध्य तारीख (टीएमआरसीए) की टीका की गई थी। टीएमआरसीए के संबंधित 95 प्रतिशत उच्चतम पश्च घनत्व (एचपीडी) अंतराल मान, खड़ी धूसर रेखाओं से दर्शाए गए हैं। क्षितिज धुरी वर्शों में समयावधिक को दर्शाती है। यूएई, संयुक्त अरब अमीरात।



चित्र 2 : सर्वाधिक नए आम पूर्वज पेस्टे डेस पेटिट्स रूमिनेंट्स वायरस (पीपीआरवी) के मूल स्थान की संभाव्यता। सतत समय मार्कोव श्रृंखला और बेजियन स्टोचेस्टिक सर्च वैरिएबल चयन प्रक्रियाओं का प्रयोग करते हुए एमसीसी वृक्ष हासिल किए गए। वंशावली 1–4 (पैनल बी–ई) के साथ–साथ वैश्विक पीपीआरवी आइसोलेट्स (पैनल ए) के उपयोग से सर्वाधिक नए आम पूर्वज ग्राफ से दर्शाए गए हैं ओर ये पीपीआरवी आंशिक सकेंद्रक प्रोटीन जीनक आंकड़ों के पूर्ण उपसैट और एकल वंशजों को पृथक से उपयोग करते हुए अनुमानित थे। मूल स्थानों की संभाव्यताएं एक्स–धुरी पर प्रतिशत के रूप में दिखाई गई है। यूएई, संयुक्त अरब अमीरात; सीएआर, केन्द्रीय अफ्रीकी रिपब्लिक।



चित्र 3 : टीका प्राप्त पीड़ित पशु में एफएमडी वायरस गैर–संरचनागत एंटीबॉडी प्रतिक्रियाएं। प्रतिशत निरोध 50 को कट ऑफ माना गया है। इन एबिस्को 300 समूह, गैर संरचनागत एंटीबॉडी स्तर कट–ऑफ स्तर से कमतर देखे गए जिससे प्रतिजन पे लोड की आधी खुराक से टीका प्राप्त पशुओं की पूर्ण सुरक्षा का प्रमाण मिलता है।



चित्र 4 : बकरी की बारबरी, तेलचेरी, कन्नी और सलेम काली नस्लों में टीएलआर 3 और 7 सूक्ष्मआरएनए के आधारभूत अभिव्यक्ति स्तर। बारबरी (सुग्राही नस्ल) की अपेक्षा कन्नी और सलेम काली नस्लों (प्रतिरोधी नस्लों) में काफी अधिक आधार टीएलआर 3 ($p<0.001$) और टीएलआर7 ($p<0.001$) एमआरएनए अभिव्यक्ति स्तर देखे गए। समान अधिनिर्देश वाली छड़ों में काफी अंतर नहीं हैं। मान, 9 एकल पशु प्रति नस्ल (n=9) में टीएलआर 3 और 7 के 40– सही सीटी का माध्य ± एसडी को दर्शाता है।

प्रोटोजोआ रोग

आण्विक स्तर पर मेजबान – परजीवी – वाहक अंतःक्रियाओं को समझना

प्रधान अन्वेषक	आनंद श्रीवास्तव	वैज्ञानिक सी
प्रयोगशाला सदस्य	श्वेता नोरी	परियोजना एसआरएफ (दिसम्बर 2014 से)
	अनिल कुमार कोठा	पीडीएफ (मार्च 2015 से)
	राखी हरणे	परियोजना जेआरएफ (मार्च–दिसम्बर 2014)
	रिंकी शर्मा मुखर्जी	परियोजना जेआरएफ (जून 2014 तक)
	बाला प्रीडबा	ग्रीष्म प्रशिक्षु (मई–जुलाई 2014)

उद्देश्य

मेरी अनुसंधान रुचि मेजबान रोगाणु विशमवार्ता में शामिल आण्विक अंतःक्रियाओं को समझने तथा टीका और नैदानिक विकास के लिए संभावित लक्ष्यों की पहचान करने में है।

मेरे अनुसंधान समूह का कार्य ''टिक्स और टिक से होने वाले रोगों'' (टीटीबीडी) पर है, जो भारत जैसे विकासशील देशों में विशेष रूप से होने वाली उच्च आर्थिक हानि के लिए जिम्मेदार है। खून चूसने के अलावा टिक्स विभिन्न रोगों के वाहक के रूप में भी कार्य करते हैं और बैक्टीरिया, वायरस तथा परजीवी से होने वाले रोग पैदा करते हैं। भारत के संदर्भ में टिक्स द्वारा भेजे जाने वाले महत्वपूर्ण परजीवी हैं थिलेरिया और बबेसिया। इन परजीवियों का मेजबान तथा वाहक (टिक) के साथ जटिल अभिक्रियाएं होती हैं। इन अतःक्रियाओं के आण्विक रूप से समझने पर परजीवियों और वाहक दोनों की उत्तरजीविता के महत्वपूर्ण मार्गों के बारे में अहम जानकारी मिलेगी। पुनः, इन महत्वपूर्ण अंतःक्रियाओं में बाधा डालना परजीवियों तथा वाहकों के लिए घातक होगा।

थिलेरिया प्रजाति से मवेशी और भेड़ों सहित रुमिनेंट संक्रमित होते हैं और उन्हें थिलेरियोसिस हो जाता है। थिलेरिया परजीवी अवैकल्पिक अंतर्कोशिकीय एपिकॉम्प्लेक्सन हिमोप्रोटोजोअन हैं। भारतीय बोवाइन में, थिलेरियोसिस मुख्य रूप से थिलेरिया एन्युलेटा से होता है और इस रोग को ''बोवाइन ट्रॉपिकल थिलेरियोसिस'' कहते हैं। यह रोग विशिश्ट किस्मों में, उनके संकर किस्मों और कम आयु वाले स्वदेशी बछड़ों में बहुत अधिक पाया जाता है।

हमारा लक्ष्य परजीवियों और वाहक की उत्तरजीविता के लिए महत्वपूर्ण बुनियादी चयापचय मार्गों को समझना है। हम आण्विक जीव विज्ञान, इमेजिंग, पात्र परजीवी संवर्धन तकनीकों के साधनों का उपयोग करते हुए बुनियादी चयापचय मार्ग की जांच करते हैं। पुनः, हम फार्म स्तर पर रोग का भार समझने के लिए जन सांख्यिकी अध्ययन करते हैं। विशेष रूप से हम निम्नलिखित उद्देश्यों पर ध्यान केन्द्रित करते हैं :

1. थिलेरिया परजीवी द्वारा मेजबान कोशिका के रूपांतरण में शामिल आण्विक प्रक्रियाओं को समझना
2. परजीवी (थिलेरिया और बबेसिया) संक्रमणों की महामारी के विज्ञान को समझना।
3. रक्त आहार के दौरान टिक द्वारा ग्रहण किए गए हिमोग्लोबिन को समझना।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (31 मार्च, 2014 तक)

हमने क्षेत्र से प्रयोगशालाओं की दशाओं के लिए पृथक्कीकृत थाइलिरिया से संक्रमित लसीका कोशिकाओं को सफलतापूर्वक अपनाया है। थाइलिरिया विशिष्ट जीनों के लिए पीसीआर का उपयोग करते हुए थाइलिरिया की मौजूदगी का पता लगाया गया था। यादृच्छिक नमूना लेने में, हमने फील्ड में थाइलिरिया से लगभग 12 प्रतिशत संक्रमण का अनुमान लगाया है।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014–31 मार्च, 2015)

परियोजना 1: थाइलिरिया परजीवी द्वारा पोषद कोशिका के रूपांतरण में शामिल आण्विक तंत्र (तंत्रों) को समझना।

कुछ थाइलिरिया प्र. में पोषद कोशिकाओं को रूपांतरित करने की क्षमता है। ये केवल यूकेरिओट्स हैं जो अन्य यूकेरियोटिक कोशिकाओं को रूपांतरित कर सकते हैं। हमारा समूह थाइलिरिया परजीवियों द्वारा पोषद कोशिका में रूपांतरण की प्रक्रिया के आधारभूत आण्विक तंत्र को समझना चाहता है।

थाइलिरिया परजीवियों को रक्त मील के दौरान संक्रमित टिक द्वारा पोषद की रक्त धारा में प्रविष्ट कराया गया। परजीवी (स्पोरोजॉइट्स), लसीका कोशिकाओं अथवा वृहदभक्षिका कोशिका पर आक्रमण कर इसे रूपांतरित करता है। परजीवी पोषद कोशिकाओं के साथ–साथ गुणन करते हैं। अंतराकोशिकीय परजीवी, पोषद कोशिका के आण्विक मार्ग (मार्गों) में हेर–फेर करता है। कई अनुसंधान समूहों ने परजीवियों द्वारा विभिन्न पोषद मार्गों के मॉड्यूलेशन दिखाया है। तथापि, ऐसे परजीवी कारकों को समझने के लिए सीमित अध्ययन किए गए हैं जिनसे ये मार्ग कम होते हैं। थाइलिरिया एनूलता और थाइलिरिया पर्वा (रूपांतरकर्ता परजीवी) के जीनोम अनुक्रमण की उपलब्धता से, उन प्रोटीनों की भविष्यवाणी करना अधिक आसान है जो रूपांतरण की प्रक्रिया में भूमिका अदा कर सकते हैं।

हमने कुछ क्षमतावान प्रत्याशी की पहचान की है जो इस प्रक्रिया में शामिल हो सकते हैं, जैसे :

1. **प्रोहिबिटिन** : ये विकास के क्रम में संरक्षित जीन हैं, जो एक समान अभिव्यक्त होते हैं और मुख्यतः सूत्रकणिका और केंद्रकों में अवस्थित होते हैं। इन प्रोटीनों के कार्यों में प्रवर्धन–रोधन, ट्यूमर दमनकर्ता, कोशिका चक्र और एपोप्टोसिस का नियमन शामिल है। इसके अलावा, कुछ अध्ययनों में कोशिकीय अमरत्व और जीर्यमान प्ररूपी में भूमिका भी दिखाई गई है। टी. एनुलता में प्राहिबिटिन की जीनोम खोज के परिणाम तीन स्वीकृत जीन (टीए04375, टीए19320 और टीए 08975) मिले हैं। इन स्वीकृत प्रोटीनों के बहु–संरेखण से टीए04375 और टीए19320 के बीच काफी अधिक समानता दिखाई दी है। पीईटी 21 में जीन कोडित करने वाले स्वीकृत प्रोहिबिटिन (टीए19320) का क्लोन बनाया गया और बीएल21 डीई3 कोशिकाओं में अभिव्यक्त किया गया जिसकी पुष्टि एंटी–हिज एंटीबॉडी के उपयोग से वैस्टर्न ब्लॉट विश्लेषण द्वारा की गई थी। (चित्र 1 बी और 1सी)। तथापि, इसे समावेशी बॉडीज के रूप में अभिव्यक्त किया जाता है। इन प्रोटीन को रिफाल्डिंग द्वारा विलेख रूप में अथवा अन्य रोगवाहकों जैसे जीजीईएक्स में अभिव्यक्त द्वारा अभिव्यक्त करने के प्रयास किए जा रहे हैं। प्रोटीन को एंटीबॉडी उत्पन्न करने के लिए उपयोग किया जाएगा और इन एंटीबॉडीज के साथ पुल डाउन आमापन किया जाएगा।

2. **साइक्लोफिलिन** : इनका संबंध प्रोटीनों के परिवार से है जिसे पेप्टिडिल पोलिल–इसोमरेज के नाम से जाना जाता है। ये प्रोटीन एमिनो एसिड प्रोलाइन वाले पेप्टाइड बंधनों के सिस और ट्रांस आइसोमर्स को अंतर परिवर्तित करते हैं। टी. अनुलता डेटाबेस में साइक्लोफिलिन की जीनोम खोज से उन्नीस स्वीकृत जीन (टीए14055, टीए1975, टीए13940, टीए05805, टीए03410, टीए 04070, टीए19600, टीए16315, टीए 16335, टीए12765, टीए1570, टीए17965, टीए0785, टीए18945, टीए03050, टीए06050 और टीए06205) मिले हैं। इन प्रोटीनों में से : टीए 13185 ओर टीए19600 और टीए18495 के बारे में पोषद कोशिकाद्रव्य में निमुक्त होने की भविष्यवाणी की गई है। पीईटी21ए में जीन कोडित करने वाले साइक्लोफिलिन (टी13185) का क्लोन बनाया गया (चित्र 1ए) और बीएल21डीई3 कोशिकाओं में अभिव्यक्त किया गया जिसकी एंटी–हिज एंटीबॉडी का उपयोग करते हुए वैस्टर्न ब्लॉट बॉडीज द्वारा पुष्टि की गई थी (आंकड़े नहीं दर्शाए गए हैं)। रिफोल्डिंग और अन्य रोगवाहकों में अभिव्यक्ति द्वारा इन प्रोटीनों को विलेय रूप में अभिव्यक्त करने के प्रयास किए जा रहे हैं। एंटीबॉडी उत्पन्न करने के लिए इन दोनों प्रोटीनों का उपयोग किया जाएगा और इन एंटीबॉडीज के साथ पुल डाउन आमापन किए जाएंगे।

3. **एक्टिन** : जीन कोडक एक्टिन प्रोटीन को पीईटी 21ए में क्लोन बनाया गया (चित्र 1ए) और बीएल21डीई3 कोशिकाओं में अभिव्यक्त किया गया (आंकड़े नहीं दर्शाए गए हैं)।

परियोजना 2 : ब्लड मील के दौरान टिक्स द्वारा हिमोग्लोबिन के उद्‌ग्रहण को समझना।

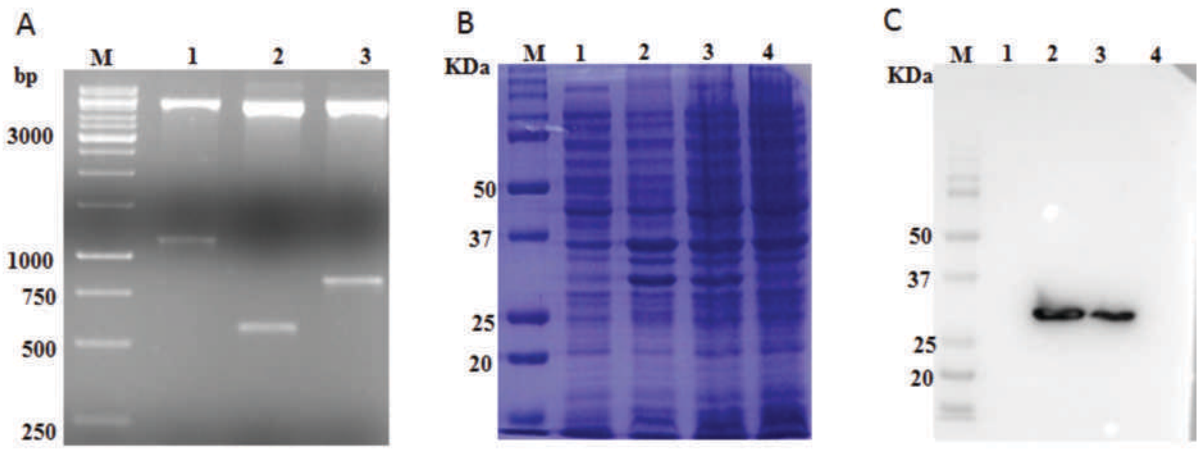
रक्त अंतर्ग्रहण और पाचन, टिक्स की काफी अधिक महत्वपूर्ण चयापचय क्रियाविधि है। टिक्स के मध्यांत्र में लोहित कोशिकाओं को अपघटित किया जाता है और हिमोग्लोबिन को पाचक कोशिकाओं द्वारा ग्रहण किया जाता है। तथापि, पाचक कोशिकाओं द्वारा हिमोग्लोबिन के चयनात्मक ग्रहण तंत्र के बारे में काफी हद तक जानकारी नहीं है। यह माना गया है कि पाचक कोशिकाओं द्वारा हिमोग्लोबिन रिसेप्टर माध्यिक एंडोसाइटोसिस के जरिए ग्रहण किया जाता है। इन रिसेप्टरों की पहचान और तंत्र को स्पष्ट करने से टिक जीवविज्ञान में नए मार्ग प्रशस्त होंगे।

यह हमारी प्रयोगशाला में हाल की क्रियाविधि है। हमने हाउस कीपिंग जीनों नामतः एक्टिन और ग्लूटेथिऑन एस–ट्रांसफरेज का क्लोन बनाया है। इसी के साथ हमने एस्पोरेटिक प्रोटीज के लिए सतही जीन कोडिंग का क्लोन बनाया है (चित्र 2ए)। हमने इन जीनों का पीईटी21ए रोगवाहक में क्लोन बनाया और इन्हें बी11डीई3 में अभिव्यक्त किया है। ग्लूटाथिऑन एस–ट्रांसफरेज को विलेय प्रोटीन के रूप में अभिव्यक्त किया है जिसकी पुष्टि एंटी–हिज एंटीबॉडी का उपयोग करते हुए वैस्टर्न ब्लॉट विश्लेषण से की गई थी (चित्र 2बी और सी)। चूहों में इस प्रोटीन के खिलाफ एंटीबॉडी उत्पन्न किए गए हैं। इसके अलावा, हमने क्लेरिथ्रीन माध्यित

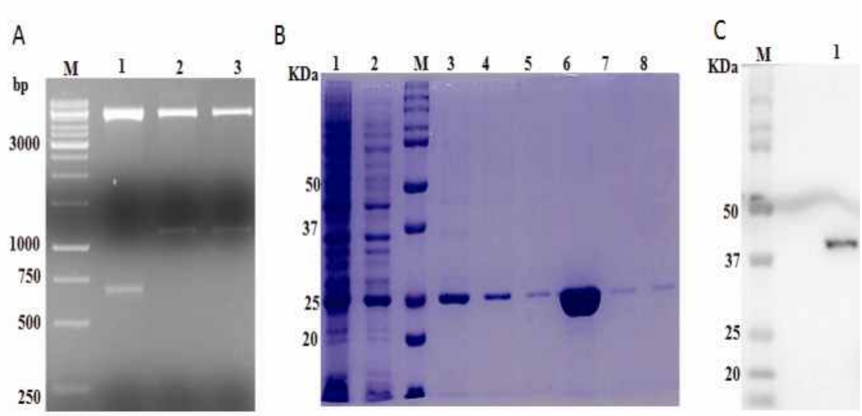
एंडोसाइटोसिस नामतः क्लेरिथ्रीन एडेप्टर प्रोटीन (बीओसी 00464), पुटिका परतदार प्रोटीन (बीओसी924), क्लेरिथ्रीन लाइट चेन (बीओसी 01377) में भूमिका वाले स्वीकृत जीनों की पहचान की है। वर्तमान में, हम इन स्वीकृत जीनों का क्लोन बना रहे हैं। एंटीबॉडीज उत्पन्न करने के लिए पुनर्संयोजी प्रोटीनों का उपयोग किया जाएगा जिन्हें बाद में स्थान निर्धारित करने एवं पुल डाउन आमापनों के लिए प्रयुक्त किया जाएगा।

सारांश

हमने पोषद कोशिकाओं में रूपांतरण में थाइलिरिया जनजीवी के अणुओं की भूमिका समझने की ओर काम करना शुरू कर दिया है। इसी के साथ, हमने टिक्स द्वारा रक्त के पाचन में शामिल आण्विक तंत्र को समझने के लिए अनुसंधान कार्य शुरू कर दिया है।



चित्र 1. थाइलिरिया के विभिन्न जीनों की क्लोनिंग और अभिव्यक्ति। (क) पीईटी21ए रोगवाहक में स्वीकृत जीनों की क्लोनिंग। 1ः एक्टिन (टीए15750) 1131बीपी, 2ः साइक्लोफिलिन (टीए13185) 591बीपी, लेन3ः प्रोहिबिटिन (टीए19320) 834बीपी (ख) बीएल21डीई3 में अभिव्यक्त और 1एमएम आईपीटीजी में प्रेरित, एसडीएस–पीएजीई, एम, मार्कर द्वारा दृश्यमान प्रोहिबिटिन (टीए19320) जीन। 1. अप्रेरित, 2. प्रेरित अपघटय, 3. प्रेरित पेलेट, 4. प्रेरित विलेय अंश, (ग) एंटी–हिज एंटीबॉडीज, एक टैग–विशिष्ट एंटीबॉडी के साथ इम्यूनोब्लॉटिंग के बार पीवीडीएफ श्लेष्माओं में अंतरित। एमः मार्कर; 1. अप्रेरित 2. प्रेरित लसीका, 3. प्रेरित पेलेट, 4. प्रेरित विलेय अंश।



चित्र 2. टिक्स के विभिन्न जीनों की क्लोनिंग और अभिव्यक्ति। (क) पीईटी21ए रोगवाहक में स्वीकृत जीनों की क्लोनिंग। 1ः एक्टिन (699बीपी), 2ः जीएसटी (1127 बीपी), लेन 3ः एस्पार्टिक प्रोटीज (1134बीपी) (ख) बीएल21डीई3 में अभिव्यक्त और 1एमएम आईपीटीजी के साथ प्रेरित, एनआई–एनटीए बीड्स द्वारा शुद्धिकृत एवं एसडीएस–पीएजीई, एम, मार्कर द्वारा दृश्यमान जीएसटी 25.6 केडीए प्रोटीन। 1. अपघटय, 2. फ्लो थ्रू 3. धावन 1, 4. धावन 2, 5. क्षालन 1, 6. क्षालन 4,7. क्षालन 8, 8. क्षालन 10, (ग) एंटी–हिज एंटीबॉडीज, एक टैग–विशिष्ट एंटीबॉडी के साथ इम्यूनोब्लॉटिंग के बाद पीवीडीएफ श्लेष्माओं में अंतरित। एमः मार्कर; 1. शुद्धिकृत प्रोटीन।

गोयक्ष्मा थिलेरियोसिस में रोगजनन और पोषद परजीवी अंतःक्रिया

एंप्रमुख अन्वेषक	परेश शर्मा	वैज्ञानिक सी
प्रयोगशाला के सदस्य	नीना जॉर्ज	परियोजना अध्येता
	पेड्डी रेड्डी	परियोजना अध्येता
सहयोगकर्ता	आनंद कुमार	प्रोफेसर, एसवी वेटरीनरी विश्वविद्यालय
	वसुंधरा भंडारी	डीएसटी युवा वैज्ञानिक, एनआईएबी

परियोजना 1 : गोयक्ष्मा थिलेरियोसिस में रोगजनन और पोषद परजीवी अंतःक्रियाओं को समझना

वंश थिलेरिया के एपिकंपलेक्सन परजीवी की वजह से गायों में विश्व भर में गंभीर संक्रमण और आर्थिक हानि होती है। ये परजीवी रक्त पर हमला करते हैं और इनके संक्रमण से मृत्यु हो सकती है। आर्थिक रूप से सर्वाधिक महत्वपूर्ण प्रजातियां टी. एन्नुलेटा और टी. पारवा, मृत्यु और उत्पादन में कमी के लिए उत्तरदायी हैं। भारत में, टी. एन्नुलेटा सर्वाधिक प्रचलित परजीवी है और रक्त रंजित लेपों में परजीवियों के सूक्ष्मदर्शी से प्रेक्षण के उपयोग से परंपरागत विधियों द्वारा इसकी पहचान की जाती है। रोगजनकता को समझने और परजीवी संक्रमणों के खिलाफ प्रभावी नियंत्रक कार्यनीतियां बनाने के लिए थिलेरिया की आम प्रचलित प्रजातियों की पहचान करने के लिए जानपदिक रोग सर्वेक्षणों और निगरानी जरूरी है। थिएलेरिसीडल दवाओं जैसे बुपर्वाक्वोन के प्रयोग से वर्तमान कीमौथैरेपी के साथ ही ऐकेरसनाशियों के उपयोग से टिक नियंत्रण के दुश्प्रभाव हैं और फील्ड से दवा प्रतिरोध की रिपोर्ट मिली हैं। गायों में तनुकृत टी. एन्नुलेटा सिजोंट अवस्था के टीके से टीकाकरण करने से इन कमियों को दूर किया जा सकता है जो भारत में रक्षावैक–टी के नाम से उपलब्ध है। तथापि, टीके के कार्य–तंत्र और रोगजनन के बारे में अभी जानकारी नहीं है। कोशिका संवर्धन टीके की मुख्य व्यावहारिक खामी दूर–दराज के स्थानों में वितरण के लिए शीत–श्रृंखला की जरूरत है। रोग जनकता, पोषद–परजीवी अंतःक्रिया और उन विशेषताओं की बेतहर समझ, जो परजीवीकृत कोशिका वंश ऐसे मार्कर प्रदान कर सकते हैं जिनसे सुग्राही पशुओं में परीक्षण से पूर्व तनुकरण की अंतःपात्रे निगरानी इजाद करने के लिए तनुकृत वंशों का अधिक तीव्र चयन किया जा सकेगा। हमारी परियोजना का लक्ष्य इसकी व्याप्ति संबंधी व्यापक आंकड़े एकत्र करना, वर्तमान टीके के कार्य–तंत्र का अध्ययन करना और उग्र परजीवियों में भिन्नता से अभिव्यक्त जीनों की पहचान करना है जिससे उनकी उग्रता के कारकों और रोग की प्रक्रिया के दौरान शामिल तंत्र को समझने में मदद मिलेगी। पहचाने गए जीन पोषद– परजीवी अंतःक्रियाओं में महत्वपूर्ण भूमिका भी निभा सकते हैं।

उद्देश्य :–

1. आन्ध्र प्रदेश और तेलंगाना राज्यों में थिलेरिया परजीवियों का जानपदिक रोगविज्ञान।
2. गोयक्ष्मा थिएलेरियोसिस के दौरान पोषद परजीवी अंतःक्रियाओं और उग्रता में शामिल जीनों की पहचान।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

टी. एन्नुलेटा परजीवियों की व्याप्ति की पहचान करने के लिए आन्ध्र प्रदेश और तेलंगाना राज्यों के विभिन्न स्थानों से पशुओं और भैंसों की यादृच्छिक आबादी से कुल 862 रक्त नमूने एकत्र किए गए थे। संक्रमित पशुओं से टी. एन्नुलेटा परजीवियों के क्लिनिकल आइसोलेट्स अलग किए गए थे और इसके अलावा, परजीवी संवर्धन और प्रवर्धन का मानकीकरण किया गया था। टी. एन्नुलेटा परजीवियों के लिए विशिष्ट 18एस $_{आर}$आरएनए और टीएएमएस जीन जीन युक्त पीसीआर के बाद 862 रक्त नमूनों से डीएनए पृथक किया गया था। हमारे परिणामों से तेलंगाना और आन्ध्र प्रदेश राज्यों में पशुओं और भैंसों में संयुक्त रूप से टी. एन्नुलेटा संक्रमण की समग्र व्याप्ति 32.40 प्रतिशत अनुमानित थी (चित्र 1)। उग्रता मार्करों की पहचान करने और रोगजनकता को समझने के लिए और अधिक अध्ययन जारी हैं जो नई टीकों और दवाओं के लक्ष्यों की पहचान करने में मददगार होंगे।

परियोजना 2 : स्टेफिलोकॉकस ऑरियस– स्तनशोथ के प्रमुख रोगजनक के खिलाफ मार्कर संबंधी रोग की पहचान

स्तनशोथ, अथवा स्तनग्रंथि की सूजन, सर्वाधिक जटिल और विनाशकारी रोगों में से एक है जिससे गायें प्रभावित होती हैं। भारत में, यह दुधारू पशु को प्रभावित करने वाले एफएमडी के बाद सर्वाधिक दूसरी महत्वपूर्ण और खतरनाक रोग है। एस. ऑरियस, एक महत्वपूर्ण रोगजनक जीवाणु है जिसकी वृहद पोषद रेंज है और यह विश्वभर में क्लिनिकल अथवा उप–क्लिनिकल स्तनशोथ का सर्वाधिक आम कारण है। स्तनशोथ के लिए, एस. ऑरियस को चुचूक नाल के जरिये स्तन ग्रंथि तक पहुंचना और स्थानीय देहद्रवी एवं कोशिकीय प्रतिरक्षा पर काबू पाना जरूरी है। एस. ऑरियस, सतह– संबद्ध स्रावी उत्पादों, श्वेत कोशिका जीव विषों और आंत्र जीवविषों सहित कई उगता कारक भी उत्पन्न करता है। एस. ऑरियस, अंतरास्तन संक्रमणों के लिए संक्रमण पैटर्न अक्सर पशु दर पशु भिन्न होता है और ये भिन्नताएं उपभेद में भिन्नताओं से संबंधित हो सकती है चाहे अन्य अध्ययन यह संकेत करते हैं कि गव्य

स्तनशोथ विकास में कुछ क्लोन ही शामिल होते हैं। दुधारू पशुओं में एस. ऑरियस, जानपदिक रोगविज्ञान संबंधी अधिकांश अध्ययनों का फोकस विभिन्न उग्रता कारकों की मौजूदगी और उनकी भूमिका अथवा विभिन्न प्रकार के जीनोटाइप पर रहा है। हालांकि, भारतीय उपभेदों के लिए आज तक रोगकारक के आम उपभेदों की पूर्ण जीनोमिक और प्रोटेमिक सूचना उपलब्ध नहीं है। क्लिनिकल जांच उपकरणों के रूप में उपयोग हेतु, शीघ्र पहचान हेतु उपायों, रोग की निगरानी और उपचार के प्रति प्रतिक्रियाओं का मूल्यांकन करने के साधानों के रूप में जैव मार्करों की खोज विगत दो दशकों के दौरान मानव और पशु औषधी में निरंतर विकास हुआ है। परियोजना का उद्देश्य उपभेदों के बीच भिन्नताओं एवं समानताओं की पहचान के लिए जीनोमिक और प्रोटिओमिक उपकरणों के उपयोग से भारत में एस. ऑरियस के आम उपभेदों का लक्षण निर्धारण करना है। इन जीनों की पहचान करना ऐसे जैव मार्करों को परिभाषित करने के लिए महत्वपूर्ण है जिनका नए नैदानिक उपकरणों के विकास के लिए और संभावित टीका लक्ष्यों के लिए उपयोग किया जा सकता है। परियोजना से निष्कर्षों से रोगजनन को समझने में मदद मिलेगी और इसीलिए, यह पशुधन उद्योग के लिए काफी मददगार हो सकते हैं।

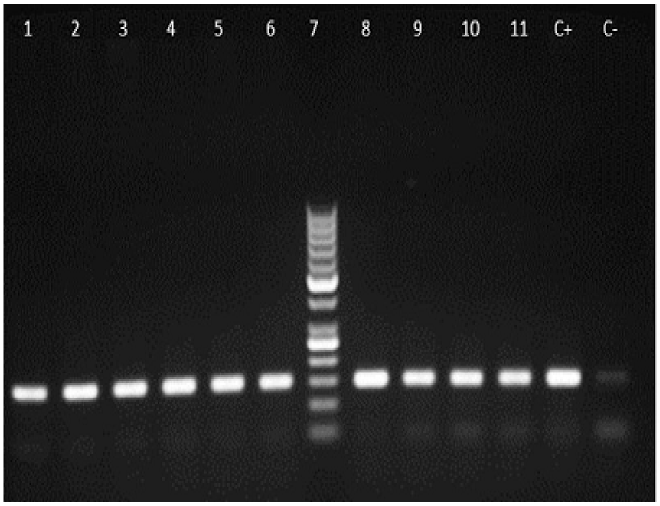
इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

हमने आन्ध्र प्रदेश और तेलंगाना के भिन्न राज्यों से स्तनशोथ से संक्रमित पशुओं जैसे कैटल, भैंस और बकरी के उप–क्लिनिकल और क्लिनिकल मामलों से दुग्ध के नमूने एकत्र किए। 37 डिग्री से. पर मस्तिश्क हृदय आधान यूश में अंतः पात्रे, एस. ऑरियस को आइसोलेट किया गया और बनाए रखा गया। सूक्ष्म यूश तनूकरण आमापन का उपयोग कर न्यूनतम अवरोधक सांद्रण (एमआईसी) की जांच के लिए सभी आइसोलेट्स के खिलाफ एंटीबॉयोटिक संवेदनशीलता आमापन किया गया था। एमआईसी को दवा के सबसे कम सांद्रण के रूप में परिभाषित किया गया जिससे रंग में परिवर्तन की रोकथाम हुई अथवा जिसकी मूल 6.0 का उपयोग करते हुए प्रतिक्रमी विश्लेषण के प्रयोग से गणना की गई (तालिका 1)। पीसीआर और 16एस $_{आर}$आरएनए एवं बी1एजेड जीन से इतर उग्रता जीनों जैसे एमईसी ए, एमईसी सी, वीएएन ए, वीएएन बी, वीएएन एक्स, वीएएन वाय, वीएएन जेड, पीवीएल जीन के उपयोग से एंटीबॉयोटिक प्रतिरोध की मौजूदगी एवं गैर–मौजूदगी हेतु विशिष्ट प्राइमरों का उपयोग करते हुए एस. ऑरियस आइसोलेट्स का और अधिक आण्विक एवं जैव–रासायनिक लक्षण निर्धारण किया गया (चित्र 2)। इसके अलावा, एस. ऑरियस उपभेदों के वंशजों की पहचान करने के लिए मानक प्राइमरों के उपयो से एसपीए टाईपिंग और एमएलएसटी किया जा रहा है। एंटीबायोटिक संवेदशीलता, उग्रता और नवीन स्पा टाइप पर आधारित आइसोलेटेड उपभेदों का और अधिक गहराई से लक्षण निर्धारण करने के लिए नेक्स्ट जिनोमिक और प्रोटिओमिक्स विश्लेषण किया जाएगा।

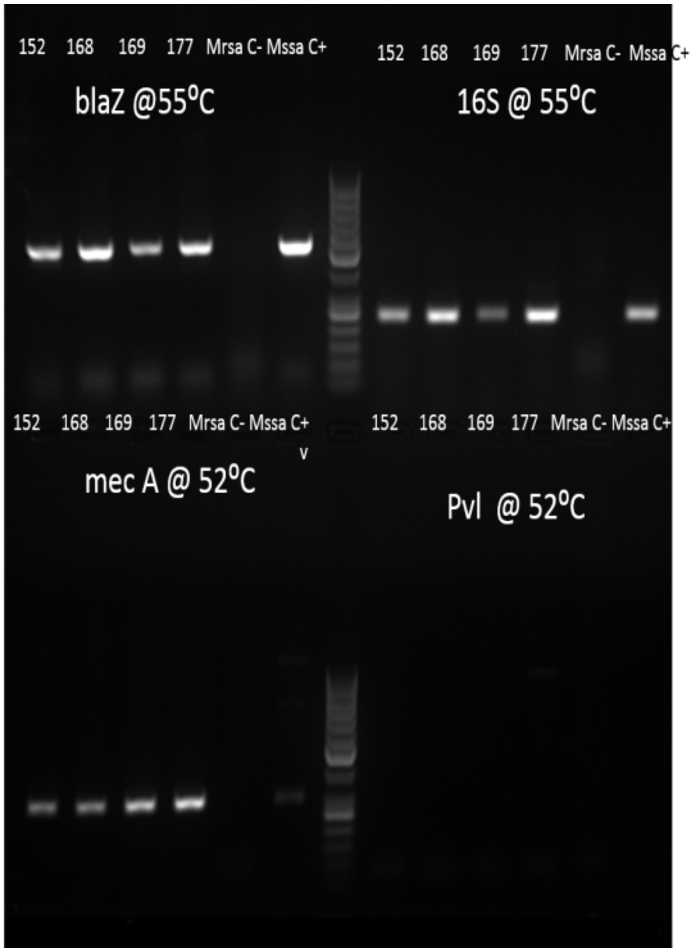
तालिका 1 : गोयक्ष्मा स्तनशोथ मामलों से एस. ऑरियस क्लिनिकल आइसोलेट्स की एंटीबायोटिक सुग्राह्यता

क्र. सं.	उपभेद आईडी	क्लिनिकल नमूना / उद्भव	एमआईसी ऑक्सिलीन (माइक्रोग्राम / मि.ली.)	एमआईसी वेनोमाइसिन (माइक्रोग्राम / मि.ली.)
1	एटीसीसी 29213	मानक उपभेद–एटीसीसी	0.5	0.5
2	एटीसीसी 50	मानक उपभेद–एटीसीसीझ	10	8
3	एस–1	दुग्ध नमूना / गाय	1.25	0.5
4	एस–2	दुग्ध नमूना / भैंस	10	1
5	एस–3	दुग्ध नमूना / गाय	0.625	1
6	एस–4	दुग्ध नमूना / गाय	2.5	1
7	एस–5	दुग्ध नमूना / गाय	1	0.5
8	एस–6	दुग्ध नमूना / गाय	10	1
9	एस–7	दुग्ध नमूना / गाय	1.25	1
10	एस–8	दुग्ध नमूना / गाय	0.625	1
11	एस–11	दुग्ध नमूना / बकरी	0.039	0.5

सीएलएस 1 दिशा–निर्देशों का प्रयोग करते हुए और गुणवत्ता नियंत्रण हेतु मानक एटीसीसी उपभेद सहित सूक्ष्म यूश तनुकरण आमापन किया गया। सभी प्रयोग, डुप्लीकेट्स के साथ तीन बार किए गए।



चित्र 1. 18एस आर आरएनए का उपयोग करते हुए विभिन्न गोयक्ष्मा रक्त डीएनए से प्रवर्धित डीएनए को अगारोज जेल इलेक्ट्रोफोरेसिस। लेन : 1–6 और लेन 8–11 गोयक्ष्मा डीएनए नमूने, लेन 7–50 क्षार युक्त डीएनए लेडर; लेन 12– पॉजिटिव नियंत्रण : टी. एन्नुलेटा संवर्धन डीएनए; लेन 13– नेगेटिव नियंत्रण आसवित जल। बैंड का अपेक्षित आकार 150



चित्र 2. विभिन्न अनीलन तापमानों पर एस. ऑरियस के लिए विशिष्ट चार भिन्न प्राइमर बी1एजेड, 16एस आर आरएनए, एमईसी ए और पीवीएल जीन युक्त फील्ड से एस. ऑरियस के क्लिनिकल आइसोलेट्स के साथ पीसीआर परिणाम। लेन 1 से 4 चार भिन्न आइसोलेट्स हैं और अंतिम दो लेन एमआरएसए पॉजिटिव और नेगेटिव नियंत्रण हैं।

टॉक्सोप्लाज्मा गॉन्डियाइ में डीएनए प्रतिकृति से संबद्ध कोशिका चक्र नियामकों का लक्षण निर्धारण

प्रमुख अन्वेषक : अभिजीत एस. देशमुख डीएसटी / इन्स्पायर संकाय

उद्देश्य

टॉक्सोप्लाज्मा टेकिजॉयट्स प्रतिकृति चक्र, चिरसम्मत पशु कोशिका चक्र से भिन्न होता है क्योंकि वे तीन–चरण चक्र अर्थात जी1, एस और एम चरणों का उपयोग करते हुए विभाजित होते हैं। डीएनए अवरोधकों का उपयोग करते हुए किए गए आरंभिक कार्य संकेत करते हैं कि टॉक्सोप्लाज्मा में चिरसम्मत कोशिका चक्र जांच बिंदु नहीं होते और संभवत उनके जटिल कोशिका चक्रों के ऊपर नए नियंत्रण तंत्र की ओर संकेत करते हैं। कोशिका चक्र नियंत्रण में साइक्लिन–डिपेंडेंट काइनेस (सीडीके) महत्वपूर्ण भूमिका निभाते हैं। कोशिका चक्र से होकर गमन सीडीके साइक्लिन युग्मों की उत्तरोत्तर गतिविधियों द्वारा प्रेरित होता है। स्तनपायी कोशिकाओं में, नौ उत्प्रेरित उप–इकाइयां, सीडीके (सीडीके 1–9) और कम से कम 16 नियामक साइक्लिनों की पहचान की गई है जो विभिन्न क्रियाविधियों द्वारा कोशिका चक्र को विनियमित करती हैं, इनमें एक प्रतिकृति प्रोटीनों के साथ इसकी अंतःक्रिया है। टॉक्सोप्लाज्मा गॉन्डियाइ में सीडीके–साइक्लिनों और उनके सब्सट्रेट की पूरी सूची ज्ञात नहीं हैं और इसी कारण, सीडीके सक्रियण के डाउनस्ट्रीम घटनाक्रम स्पष्ट नहीं हैं। सीडीके सक्रियक काइनेस (सीएके) अपने टी–लूप पर फोस्फोराइलेशन के जरिए सीडीके को सक्रिय करती है। सीएके तीन उप इकाइयों से बना होता है : सीडीके 7, साइक्लिन एच और एमएटी 1 (त्रिबंधन)। अन्य छह उप–इकाइयों के साथ मिलकर, सीएके सामान्य अनुलेखन कारक टीएफआईआईएच का भी हिस्सा है जहां यह प्रोमोटर क्लीयरेंस और प्रारंभपूर्व से आरंभ की अवस्था तक अनुलेखन की ओर अग्रसर होता है। सीएके, विभिन्न प्रजातियों में नाटकीय तौर पर भिन्न होता है। कशेरूकी और ड्रोसोफिला में, सीएके त्रिमितिक जटिल होता है जबकि मुकुलन और विखंडन खमीर में, यह क्रमशः एकमिति और द्विमिति प्रोटीन काइनेस होती है। इन तथ्यों के मद्देनजर, मैंने निम्नलिखित मुख्य उद्देश्यों से अध्ययन करने की योजना बनाई है।

i. टॉक्सोप्लाज्मागॉन्डियाइ में सीएके उप इकाइयों की पहचान करना।

ii. एकमिति / द्विमिति / त्रिमिति सीएके और उनकी उप–इकाइयों की मौजूदगी का अध्ययन करना।

iii. परजीवी कोशिका चक्र और अनुलेखन में टॉक्सोप्लाज्मा सीएके की भूमिका का अध्ययन करना।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (7 अक्तूबर, 2013 – 31 मार्च, 2014)

टॉक्सोप्लाज्मा शोध के लिए टॉक्सोप्लाज्मा गॉन्डियाइ के लिए अंतः पात्रे संवर्धन प्रणालियां आधारभूत हैं। सभी प्रायोगिक मॉडलों, आनुवंशिक अध्ययनों, जैव रासायनिक मार्गों और दवाओं के अध्ययनों एवं सिरोलॉजीकल परीक्षणों के विकास के लिए टेकिजॉयटिस का उत्पादन अनिवार्य है। इस प्रयोगशाला में, मैंने मानव अग्रच्छद तंतुप्रसू (एचएफएफ) में अंत पात्रे संवर्धन प्रणाली विकसित की है, जिससे नए व्यवहार्य टेकिजॉयट्स की नियमित फसल प्राप्त हो सके। 5 प्रतिशत गर्भज गोवत्स सीरम और 37 डिग्री से. एवं 5 प्रतिशत कार्बन डाई–ऑक्साइड से पूरित डलबिक्कोज मॉडिफाइड ईगल्स मिडियम (डीएमईएम) में मानव अग्रच्छद तंतुप्रसू (एचएफएफ, एटीसीसी–सीआरएल 1634 से प्राप्त कोशिका संवर्धन) के जरिये टी. गॉन्डियाइ आरएच उपभेद बरकरार रखा गया है।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

परियोजना : टी. गॉन्डियाइ सीडीके सक्रियक काइनेज (सीएके) की पहचान और लक्षण– निर्धारण।

कोशिका चक्र साइक्लिन साझेदार से बंधन द्वारा सीडीके के सक्रियण और सक्रिण क्षेत्र अथवा किसी सीएके द्वारा टी–पाश पर फॉसफोरीकरण द्वारा प्रेरित होता है। सीएके, सीडीके 7, साइक्लिन एच और एमएटी 1 का त्रिज्यामितिय कॉम्प्लेक्स होता है। यही त्रिज्यामितिय कॉम्प्लेक्स बेसन अनुलेखन कारक टीएफआईआईएच का भी अंश होता है। टॉक्सोप्लाज्मा में सीएके के किसी एक संघटक की पहचान नहीं होती। डेटा माइनिंग और टॉक्सोप्लाज्मा जिनोम संसाधन के उपयोग से होमोलॉजी की खोज से टी. गॉन्डियाइ जीन कोडिंग प्रोटीनों की पहचान हुई जो कशेरूकी सीडीके 7, साईक्लिन एच और एमएटी 1 के ज्ञात साझेदारों के समधर्मी थे।

टीजीसीडीके 7 : सीडीके7 और साइक्लिन एच अनुलेखन कारक टीएफआईआईएच के आवश्यक संघटक हैं और यूकेरिओटिक पोलीमरेज 2 की सबसे बड़ी उप–इकाई के कार्बोक्सिल – टर्मिनल क्षेत्र का फॉस्फोरीकरण करने वाले काइनेज के रूप में पेचीदा हैं। टीजीसीडीके7 के पूर्वकथित प्रोटीन अनुक्रम की सीडीके7 परिवार से सहधर्मिता है। यह सहधर्मिता एटीपी बंधन डोमेन और उत्प्रेरक डोमेन पर आधारित है (चित्र 1)।

टीजी साइक्लिन एच : टीजी साइक्लिन एच के पूर्वकथित प्रोटीन अनुक्रम की साइक्लिन एच परिवार से सहधर्मिता है। यह सहधर्मिता साइलिन बॉक्स, सीडीसी2 – संबंधित काइनेस बंधन हेतु उत्तरदायी साइक्लिन्स के क्षेत्र पर आधारित है। साइक्लिन बॉक्स विहित साइक्लिन फोल्ड के दो अल्फा वर्तुल आवृत्तियों में एक की रचना करता है। टीजी साइक्लिन एच की आवृत्ति एक के 5 अल्फा–वर्तुल उप–क्षेत्रों के भीतर इसकी सर्वाधिक सहधर्मिता है (चित्र 2)। आज तक पहचाने गए सभी साइक्लिन एच सहधर्मी में काइनेस कार्यविधि और सीआरके बंधन, दोनों के लिए आवश्यक गैर–संरक्षित एन–टर्मिनल और सी–टर्मिनल वर्तुल दर्शाए हैं।

टीजीएमएटी 1 : एमएटी1 एक सीएके संग्रह कारक है जो सीडीके7 और साइक्लिन एच की स्थिर अंतःक्रिया में मददगार होता है। पूर्वकथित टीजीएमएटी1 प्रोटीन में संरक्षित रिंग–फिंगर डोमेन होते हैं, नामतः एन : टर्मिनस में सी3एचसी3 फिंगर (चित्र 3)। रिंग –फिंगर, 40 से 60 अपशिष्टों का विशेष प्रकार का जेडएन–फिंगर है जो जिंक के दो अणुओं को बांधे रखता है और संभवतः प्रोटीन–प्रोटीन माध्यित अंतःक्रियाओं में शामिल होता है।

तीन पहचाने गए सीएके संघटक और उनके वास्तविक सब्स्ट्रेट्स जैसे आरएनए पोलीमरेज 2 के सीडीके2, सीटीके और पीसीएनए (डीएनए प्रतिकृति प्रोटीन) का क्लोन किया गया है और ई. कोलाई में अभिव्यक्त है (चित्र 4)। सभी उल्लेखित जीन ने सीडीएनए को टेंपलेट के रूप में प्रयोग में लाते हुए प्रवर्धन किया और पीईटी21ए अथवा पीईटी28ए रोगवाहक में क्लोन बनाया। जीन जैसे सीडीके7, एमएटी1, सीडीके2 और पीसीएनए1 क्लोन पूर्ण लंबाई के जीन हैं। साइक्लिन एच आरंभिक एमिनो एसिड्स रहित एन–टर्मिनल के विलोपन से रूंडित प्रोटीन हैं और आरएनए पोलीमरेज 2 सीटीडी में कार्बोक्सिल– टर्मिनल 323 एमिनो एसिड्स होते हैं।

```
Pf_Cdk7      ------------------------------------------MENNSTERYIFKPNFLGE 18
Tg_Cdk7      MAAPQVKPEVGDSPEATRQGVLLPSASEEAAANGSSSPRLVPIKREGWQRYRQCDAFLGE 60
Hs_Cdk7      ----------------------------------------MALDVKSRAKRYEKLDFLGE 20
                                                      :. :.  :      ****

Pf_Cdk7      GSYGKVYKAYDTILKKEVAIKKMKLNK----------------------ISNYIDDCGIN 56
Tg_Cdk7      GTYGRVEKAEDLRTHQIVAIKKVKASAGSLFASGDSGSVGSGEKTRAQLLRQNVGSVGLH 120
Hs_Cdk7      GQFATVYKARDKNTNQIVAIKKIKLGH------------------------RSEAKDGIN 56
             * :. * ** *   :: *****:* .                         .   . *::

Pf_Cdk7      FVLLREIKIMKEIKHKNIMSALDLYCEKDYINLVMEIMDYDLSKIIN-RKIFLTDSQKKC 115
Tg_Cdk7      FTTVRELKVMREIEEENVMGVVDVFVEQDFICLVMELMHGDLKKLVD-SKTRLAIQHVKC 179
Hs_Cdk7      RTALREIKLLQELSHPNIIGLLDAFGHKSNISLVFDFMETDLEVIIKDNSLVLTPSHIKA 116
              . :**:*:::*:.. *::. :* : .:. * **:::*. **. ::.   .  *: .: *.

Pf_Cdk7      ILLQILNGLNVLHKYYFMHRDLSPANIFINKKGEVKLADFGLCTKYGYDMYSDKLFRDKY 175
Tg_Cdk7      IMLQILRGLHALHKRYIVHRDLAPANVFINDQGICKVADFGLSRCFGCPVVSGTLSKQEQ 239
Hs_Cdk7      YMLMTLQGLEYLHQHWILHRDLKPNNLLLDENGVLKLADFGLAKSFGSPNRA-------- 168
              :*  *.**. **: :::**** * *::::.:*  *:*****.  :*    :

Pf_Cdk7      KKNLN------------------------LTSKVVTLWYRAPELLLGSNKYNSSIDMWS 210
Tg_Cdk7      SKGETSQPGKESSVESASKTAPVAISRKELMTSKVVTLWYRPPELLFGADRYGQAVDMWS 299
Hs_Cdk7      -----------------------------YTHQVVTRWYRAPELLFGARMYGVGVDMWA 198
                                          * :*** ***.****:*:  *. .:***:

Pf_Cdk7      FGCIFAELLLQKALFPGENEIDQLGKIFFLLGTPN---------ENNWPEALCLPLYTEF 261
Tg_Cdk7      VGCIMAELLTGSPLFPGANEIDQLSRIFSLRGTPTTAAALLDEEPSLWPLASSLPSFPPF 359
Hs_Cdk7      VGCILAELLLRVPFLPGDSDLDQLTRIFETLGTPT---------EEQWPDMCSLPDYVTF 249
             .***:****    .::** .::*** :**   ***.           . **   .** :  *

Pf_Cdk7      TKATKKDFKTYFKIDDDDCIDLLTSFLKLNAHERISAEDAMKHRYFFNDPLPCDISQLP- 320
Tg_Cdk7      THTKPKSLKSVLPFCCADSLDLLDKLLQLDPSKRITAAEALNHRWFQQNPKPCSPKDLP- 418
Hs_Cdk7      KSFPGIPLHHIFSAAGDDLLDLIQGLFLFNPCARITATQALKMKYFSNRPGPTPGCQLPR 309
             .      ::  :      * :**:  :: ::.  **:* :*:: ::* : * *     :**

Pf_Cdk7      ----FNDL---------------------------- 324
Tg_Cdk7      ----VHLLGKF------------------------- 425
Hs_Cdk7      PNCPVETLKEQSNPALAIKRKRTEALEQGGLPKKLIF 346
                 .. *
```

चित्र 1. पी. फाल्सिपैरम सीडीके 7 और मानव सीडीके7 के साथ टी. गॉन्डियाइ सीडीके7 (एक्सेशन नं. टीजीएमई49ऋ270330) का एमिनो एसिड संरेखण। संरेखित प्रोटीनों में उत्प्रेरक डोमेन हाइलाइट किया हुआ है। टीजीसीडीके7 और पीएफसीडीके7 में कुल मिलाकर 40 प्रतिशत समानता है।

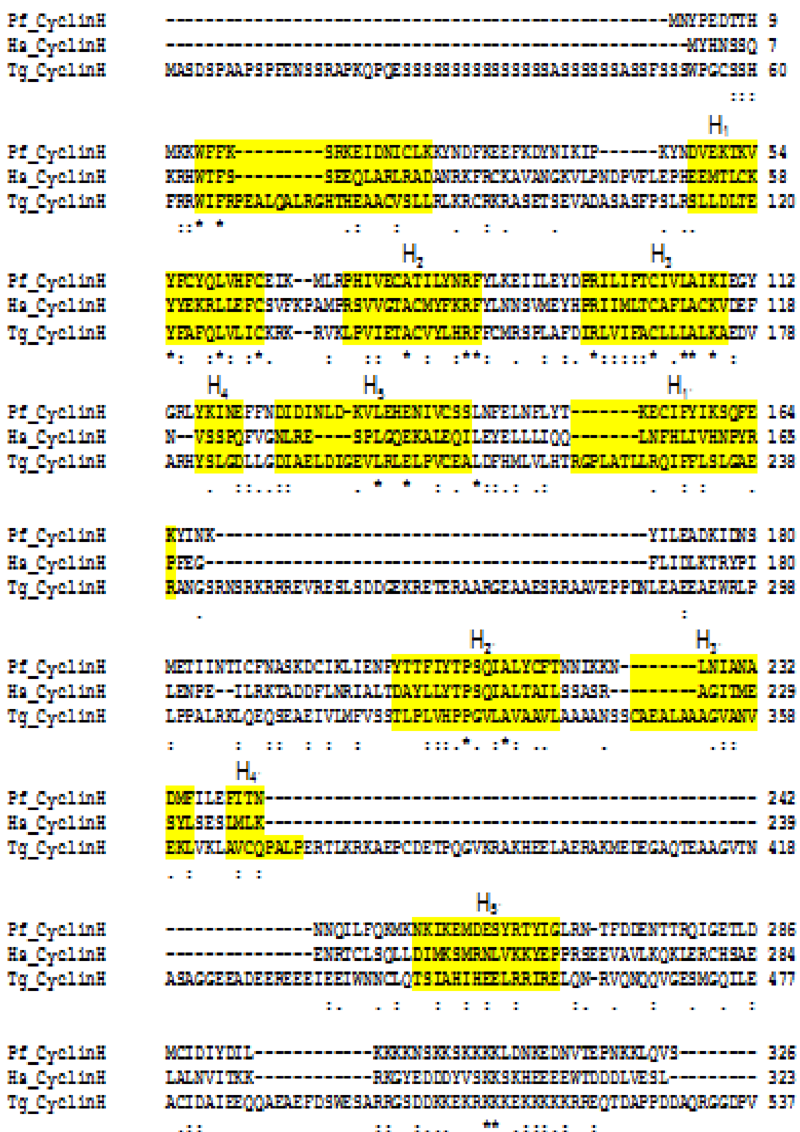
तीन पहचाने गए सीएके संघटक और उनके वास्तविक सब्स्ट्रेट्स जैसे आरएनए पोलीमरेज 2 के सीडीके2, सीटीके और पीसीएनए (डीएनए प्रतिकृति प्रोटीन) का क्लोन किया गया है और ई. कोलाई में अभिव्यक्त है (चित्र 4)। सभी उल्लेखित जीन ने सीडीएनए को टेंपलेट के रूप में प्रयोग में लाते हुए प्रवर्धन किया और पीईटी21ए अथवा पीईटी28ए रोगवाहक में क्लोन बनाया। जीन जैसे सीडीके7, एमएटी1, सीडीके2 और पीसीएनए1 क्लोन पूर्ण लंबाई के जीन हैं। साइक्लिन एच आरंभिक एमिनो एसिड्स रहित एन–टर्मिनल के विलोपन से रूंडित प्रोटीन हैं और आरएनए पोलीमरेज 2 सीटीडी में कार्बोक्सिल– टर्मिनल 323 एमिनो एसिड्स होते हैं।

सारांश

मैंने टॉक्सोप्लाज्मा गॉन्डियाइ में तीन सीएके उप–इकाइयों (सीडीके7, सायक्लिनएच और एमएटी1) की पहचान की है। सीएके की सभी उप–इकाइयां और उनके वास्तविक सब्स्ट्रेट्स पुनर्संयोजक प्रोटीनों के रूप में ई. कोलाई में क्लोन और अभिव्यक्त हैं।

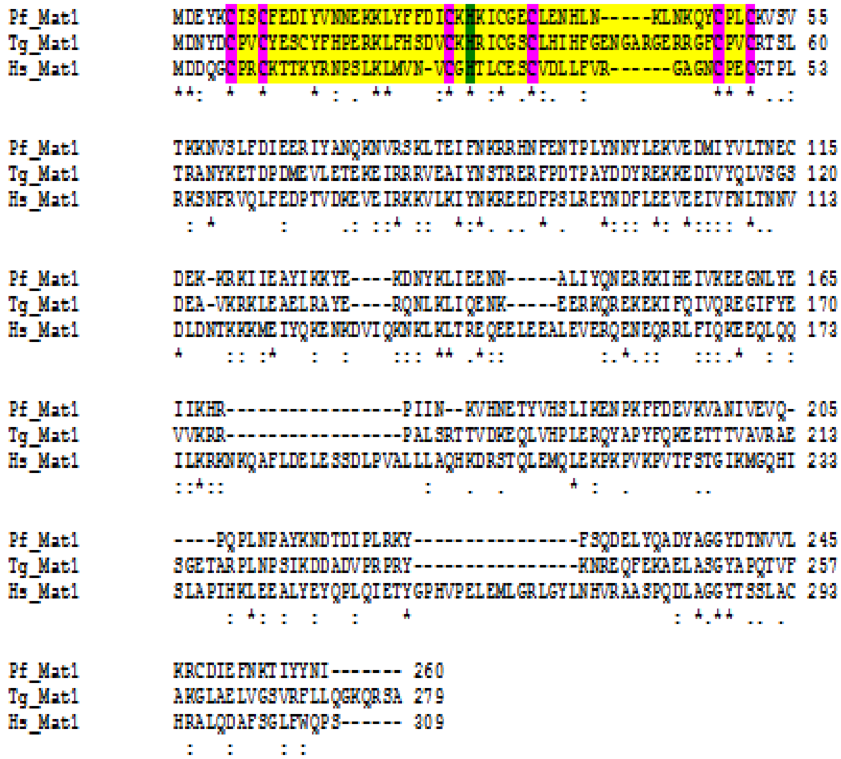
भावी योजनाएं :

1. सभी सीएके उपइकाइयों के खिलाफ पोलीक्लोनल एंटीबॉडीज उत्पन्न करना।
2. सीएके उप इकाइयों के भीतर अंतःपात्रे और अंतः जीवे द्वारा परजीवी में ज्यामितिय सीएके का अध्ययन करना।
3. वास्तविक सब्स्ट्रेट्स के उपयोग से काइनेस आमापन द्वारा परजीवी में सक्रिय सीएके की जांच करना।
4. परजीवी कोशिका चक्र और अनुलेखन में सीएके उप–इकाइयों की भूमिका का अध्ययन करना।

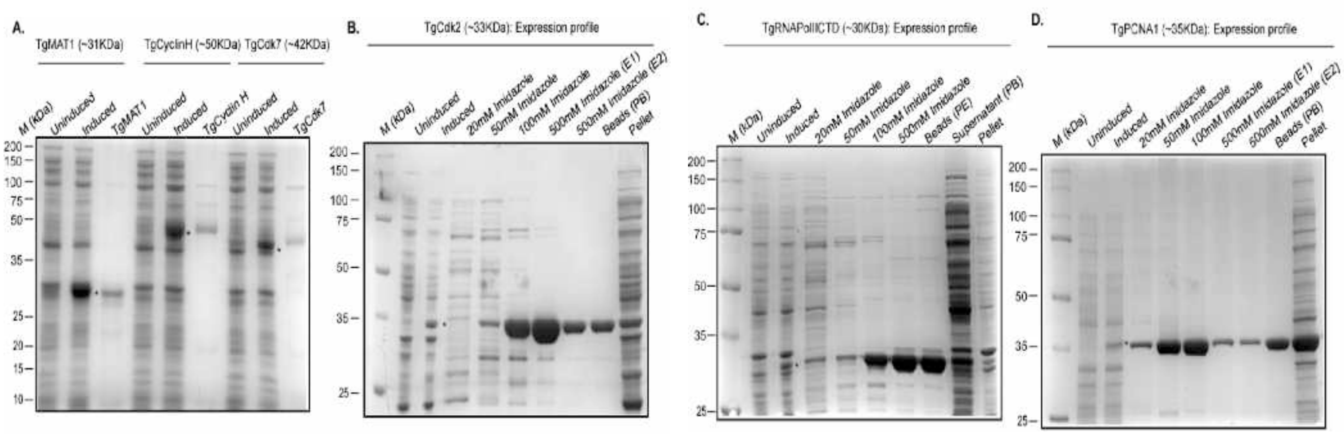


चित्र 2. पी. फाल्सिपैरम साइक्लिन एच और मानव साइक्लिन एच के साथ टी. गॉन्डियाइ सीडीके7 (एक्सेशन नं. टीजीएमई49ऋ260250) का एमिनो एसिड संरेखण। साइक्लिन एच बॉक्स क्षेत्र एच$_1$–एच$_5$ तक

व्याप्त है और इसमें संरेखित प्रोटीनों के बीच सर्वाधिक सहधर्मिता का क्षेत्र शामिल है। टीजीसायक्लिन एच और पीएफसायक्लिन एच, में साइक्लिन बॉक्स के भीतर 30 प्रतिशत समानता है।



चित्र 3. पी. फाल्सिपैरम एमएटी 1 और मानव एमएटी 1 के साथ टी. गॉन्डियाइ सीडीके7 (एक्सेशन नं. टीजीएमई49ऋ320070) का एमिनो एसिड संरेखण। रिंग– फिंगर डोमेन (हाइलाइट किया हुआ क्षेत्र) संरेखित प्रोटीनों के एन– टर्मिनल 50 एमिनो एसिड्स अपशिष्टों के बीच व्याप्त है। टीजी एमएटी1 और पीएफएमएटी1, में कुल मिलाकार 34 प्रतिशत समानता है।



चित्र 4. टी. गॉन्डियाइ सीएके उप–इकाइयों, सीडीके2, आरएनएए पोलीमरेज 2 सीटीडी और पीसीएनए1 का प्रोटीन प्रोफाइल। संबंधित प्रोटीनों को हिज संयोजन प्रोटीनों के रूप में अभिव्यक्त और शुद्धिकृत किया गया है। कूमेस्सी जेल पुनर्संयोजी टी. गॉन्डियाइ एमएटी 1, साइक्लिन एच, सीडीके 7 (क); सीडीके 2 (ख), आरएनएए पोलीमरेज 2 सीटीडी (ग) और पीसीएनए1 (घ) को दर्शाती है। चित्र में तारक, संबंधित प्रोटीनों के अपेक्षित आकार को इंगित करता है।

पशु प्रजनन

भारतीय पशुधन में बंध्यता का प्रबंधन

मुख्य अन्वेषक	सत्या वेलमुरूगन	वैज्ञानिक सी
अन्य सदस्य	स्वाति मुरूगु	परियोजना अध्येता (जनवरी, 2014– नवंबर, 2014)
	एनवी सिवा कुमार	परियोजना अध्येता (मार्च, 2014– जुलाई, 2014)
	राखी हरणे	परियोजना अध्येता (दिसंबर, 2014– अभी तक)
	एस. श्री रवाली	परियोजना अध्येता (फरवरी, 2015– अभी तक)
सहयोगकर्ता	जी. अरुणा कुमारी	सहायक प्रोफेसर, एसपीएनआरटीएसयूवीएएफएस
	टी. रघुनन्दन	प्रोफेसर, एसपीएनआरटीएसयूवीएएफएस

उद्देश्य :

बड़े जानवरों में उत्पादकता और प्रजनन में सुधार करने के उद्देश्य से, निम्नलिखित अध्ययन किए गए हैं : (1) मवेशियों और भैंसों के शुक्राणुओं का लैंगिक पृथक्कीकरण : प्राकृत नस्लों हेतु शुक्राणुओं के लैंगिक पृथक्कीकरण और पृथक्कीकरण दक्षता के वैधकरण का मानकीकरण किया जा रहा है जिसके बाद पृथक्कीकृत वीर्य के लक्षण निर्धारण संबंधी अध्ययन किए जाएंगे। (2) मादा प्रजनन का किसपेप्टीन नियमन : किसपेप्टीन, हाल ही में प्रजनन धुरी का प्रस्तावित मास्टर नियंत्रक, यौवनारंभ और प्रजनन को नियंत्रित करता है। किसपेप्टीन के शरीरविज्ञान की समझ से बाद में हम बंध्यता विकृतियों के लिए किसपेप्टीन के औषधीय सामर्थ्य का मूल्यांकन कर सकेंगे।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (31 मार्च, 2014 तक)

अक्षत जीवक्षम शुक्राणुओं को सापेक्ष डीएनए सामग्री के आधार पर फ्लो साइटोमिट्री द्वारा आबादी वहन करने वाले एक्स और वाई गुणसूत्र में पृथक किया जा सकता है : एक्स शुक्राणुओं में वाई शुक्राणुओं की अपेक्षा लगभग 3 प्रतिशत अधिक डीएनए होता है। होएचेस्ट 33342 से रंजित फ्रोजेन–थाव्ड और तनुकृत वीर्य से कैटल (जर्सी संकर नस्ल) और भैंस (मुर्रा) के शुक्राणु, नाभिकीय रंजित फ्लोरेसेंट डाइ की फ्लो साइटोमीटर / कोशिका पृथक्कार में लैंगिक पृथक्कीकरण किया गया था। तकनीक का मानकीकरण और क्यूपीसीआर का उपयोग करते हुए वैधकरण शुरू कर दिया गया था।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

परियोजना 1 : फ्लो साइटोमिट्री के प्रयोग से मवेशी और भैंस स्पर्माटोजोआ का लैंगिक पृथक्कीकरण

फ्रोजेन–थाव्ड और तनुकृत कैटल और भैंस के वीर्य से शुक्राणुओं को होएस्ट 33342 से रंजित किया गया (37 डिग्री से. पर 45 मिनट के लिए 100 मा. ग्रा. / मि.ली. ईएक्स / ईएम : 355 / 465 एनएम)। 20 पीएसआई के शीथ द्रव्य दबाव से 100 मा. मी. नोजल का उपयोग कर फ्लो साइटोमीटर (बीडी एफएसीएस एआरआईए 3) में पृथक्कीकरण किया गया। डीएनए सामग्री में अंतर को इंगित करने वाले उच्च और निम्न फ्लोरेसेंस गहनता के दो क्षेत्रों पर गेट की व्यवस्था थी और इन दो क्षेत्रों (क्रमशः एक्स और वाई आबादी) में गिरने वाले शुक्राणुओं को पृथक किया गया है। शुक्राणुओं को एकल कोशिका मोड में पृथक किया गया है। पृथक्कीकरण से पूर्व और पृथक्कीकरण के बाद शुक्राणुओं की आकारिकी और जीवक्षमता की जांच की जाती है।

फ्लोरसेन्स तीव्रता की डिग्री पर आधारित एक्स और वाई शीर्षों के रूप में पहचानी गई दो आबादियां दिखाई गई हैं (चित्र 1)। शुक्राणु कोशिकाएं जीवक्षम होती हैं और पृथक्कीकरण के बाद पूंछें वैसी ही हैं, तथापि गतिशीलता समाप्त हो जाती है।

क्यूपीसीआर के उपयोग से पृथक्कीकृत शुक्राणु (मुर्रा और जर्सी संकरण) नमूनों का वैधकरण :

शुक्राणु की अधिकतम संख्या के लिए निम्नलिखित प्रोटोकॉल का मानकीकरण किया गया है, जो अन्यथा निष्कर्षित करना मुश्किल है। 70 प्रतिशत इथेनॉल (100 मा. लि. शुक्राणुओं के लिए 500 मा. लि. में पृथक्कीकृत अथवा गैर– पृथक्कीकृत शुक्राणु नमूनों का धावन हो गया जिसके बाद 5 मिनट के लिए 13,000 आरपीएम पर केंद्र अपसरण हुआ। 500 मा. लि. लाइसिस बफर में शुक्राणु

पेलेट पुनः निलंबित होते हैं; नमूनों में ट्राइटॉन– एक्स 100 (0.5 प्रतिशत), 21 मा. लि. डीटीटी (1 मोलर) और 40 मा. लि. प्रोटीनेज के (10 मि. ग्रा. / मि. लि.) मिलाया गया और हल्के कंपन के साथ 50 डिग्री से. पर रात भर ऊष्मायन पर रखा गया। नमूने अपकेंद्रित, द्रवित और डीएनए परिमाणात्मक हो गए।

एक्स और वाई– विशिष्ट जीनों के प्रवर्धन के लिए, डीएनए प्राइमर और एषणी अनुक्रम का उपयोग किया गया जैसी पहले रिपोर्ट की गई थी (परती एट ऑल 2006 थेरिओजेनोलॉजी 66 : 2202–9) (तालिका 1)। एक्स, वाई और एमिलोजेनिन (एएमईएल) टेक्मैन एषणियों को 5′ एंड पर 6– कार्बोक्सीफ्लोरेसिन (एफएएम) का लेबल लगाया गया और सभी एषणियों के 3′ एंड पर बीएचक्यू–1 (ब्लैक होल क्वेंचर) का लेबल लगाया गया ताकि फ्लोरेसेंट का पता लग सके। बॉयोसर्व बॉयोटेक्नॉलाजीस (इंडिया) प्राइवेट लिमिटेड से सभी प्राइमरों एवं एशणियों को संश्लिष्ट कराया गया था।

क्यूपीसीआर में लिंग–संबंधी डीएनए अनुक्रम के परिमाणकरण के लिए संदर्भ टेंपलेट्स के तौर पर प्रयोग किए जाने के लिए तीन पुनर्संयोजी प्लास्मिड की रचना की गई जिसमें पीएलपी जीन ई (पी–पीएलपी), एसआरवाई (पी–एसआरवाई) जीन और एएमईएल (पी– एएमईएल) जीन का प्रवर्धित भाग था (चित्र 2)। सही जीन अंतर्वेशन अनुक्रम के मेल के लिए आइसोलेटेड पुनर्संयोजी प्लाज्मिड नमूनों (एक्ससेलरिस गेनोमिक्स) का अनुक्रम किया गया। अनुक्रमण के परिणाम अभी मिलने बाकी है।

परियोजना 2 : किसपेप्टिन द्वारा मादा प्रजनन का नियमन।

(1) दिओनी कैटल में प्लाज्मा एलएच सांद्रण पर संश्लिष्ट देने का प्रभाव

ऑरो पेप्टाइड्स, हैदराबाद में किसपेप्टीन टीवायआर –एएसएन –टीआरपी– एएसएन –एसईआर–पीएचई–जीएलवाय–एलईयू–एआरजी – पीएचई–एनएच2) का संश्लेषण किया गया था। संश्लिष्ट पेप्टाइड की भौतिक शारीरिक गतिविधि को वैध ठहराने के लिए इंस्ट्रक्शनल लाइसस्टॉक फार्म कॉम्प्लैक्स, कॉलेज ऑफ वेटेरिनरी साइंस, एसपीवीएनआरटीएसयूवीएएफएस, राजेन्द्र नगर, हैदराबाद में एक प्रारंभिक अध्ययन किया गया।

यौवनारंभ पूर्व तीन दिओनी बछड़ों में (शरीर का भार लगभग 150 किग्रा.), 5 मा. ग्रा. / कि. ग्रा. भार की दर पर संश्लिष्ट किसपेप्टिन का अंतः शिरा बोलस इंजेक्शन लगाया गया था। किसपेप्टिन देने से 10 मिनट पूर्व और 15, 30, 60 और 120 मिनट बाद रक्त के नमूने एकत्र किए गए। प्लाज्मा को पृथक किया गया और एलिसा (एब्नोवा) द्वारा एलएच सांद्रण के लिए इसका विश्लेषण किया गया।

4.5 $\pm$ 1.55 एनजी/एम1 के औसत बेसल सांद्रण से, किसपेप्टिन देने के बाद एलएच 15 मिनट में 14.23 $\pm$ 1.95 एनजी/एम1 तक और 30 मिनट के बाद 17.77 $\pm$ 5.57 एनजी/एम 1 बढ़ गया (चित्र 3)। 2 घंटे में यह बेसल सांद्रण के तुल्य 7.06 $\pm$ 2.68 एनजी/एम1 तक वापस आ गया। इस प्रारंभिक अध्ययन से, यह पता लगाया जा सकता है कि इस अध्ययन में प्रयुक्त संश्लिष्ट किसपेप्टिन जैविक तौर पर सक्रिय है और यह कैटल में प्लाज्मा एलएच स्तरों को उत्थित करता है। किसपेप्टिन दिए जाने पर अंतः स्रावी प्रोफाइल और पुटिका गतिकी का अध्ययन करने के लिए जीएनआरएच की तुलना में बाद के अध्ययनों की योजना बनाई जा रही है।

(2) चूहों में यौवनारंभ के प्रेरण पर किसपेप्टिन की लंबे समय तक अधिक खुराकों के परिसरीय रूप से देने का प्रभाव

परिसरीय किसपेप्टिन की अधिक खुराकों (13 दिन तक 50 एन मोल / दिन) की रिपोर्ट मिली है जिससे नर चूहों में वृषणग्रंथियों में अपह्रास हुआ (थॉम्पसन एट अल 2006 एम जे फिजियोल एंडोक्राइनोल मेटाब 291 : ई 1074–82)। यह अध्ययन करने के लिए कि क्या किसपेप्टिन की अधिक खुराकों का मादा चूहों में यौवनारंभ पर प्रभाव पड़ता है, 25 से 50 दिन तक लवण अथवा किसपेप्टिन (100एनएमओ1/डी) दिया गया था और यौवनारंभ का प्रेक्षण किया गया। 66वें दिन, सभी पशुओं में यौवन आने के बाद, चूहों को लवण अथवा किसपेप्टिन का इंजेक्शन दिया गया, अंतः स्रावी प्रोफाइल का विश्लेषण करने के लिए इंजेक्शन देने के 1 घंटे के बाद रक्त के नमूने एकत्र किए गए और चूहों को मार दिया गया।

40वें दिन के बाद औसतन 50́2.5 दिनों तक चूहों के नियंत्रण में योनि का पूर्ण केनेलाइजेशन (अर्थात वैजाइनल ओपनिंग; वीओ (योनि विभंग)), यौवनारंभ का एक बाहरी संकेत देखा गया जबकि केवल दिन 50 (औसत : 58.44́1.6 दिन; पी =0.01 टी–परीक्षण) से ही किसपेप्टिन से उपचारित चूहों में वैजाइनल ओपनिंग दिखाई दी। अतः, चूहों को नियंत्रित करने की तुलना में किसपेप्टिन से उपचारित चूहों में यौवनारंभ काफी अधिक विलंबित हो गया था (चित्र 4;पी =0.01, कपलान– मियर उत्तरजीविता विश्लेषण)। किसपेप्टिन से उपचारित किसी भी चूहे में वैजाइनल ओपनिंग दिखाई नहीं दी जब 50 प्रतिशत नियंत्रण चूहों में यह पहले ही दिखाई दी है (इनसेट में चित्र 4 देखें)। दोनों समूहों में वीओ के दिन शरीर के भार में कोई अंतर नहीं था।

किसपेप्टिन के देने से लवण नियंत्रणों की तुलना में आहार की मात्रा और शरीर के भार में काफी कमी हुई (चित्र 5ए और 5 बी)। गोनेड, हृदय और यकृत का अंग गुणांकों में कोई अंतर नहीं था। किसपेप्टिन देने पर 66वें दिन प्लाज्मा एलएच स्तरों में थोड़ी बढ़ोत्तरी थी। नियंत्रण और उपचारित समूहों के बीच गर्भाशय और अंडाशय की ऐतिहासिक विशेषताओं में कोई अंतर नहीं था। गर्भाशय और अंडाशयों में केआईएसएस–1, जीपीआर–54 और जीएनआरएच की ऊतक एमआरएनए अभिव्यक्ति का विश्लेषण किया जा रहा है।

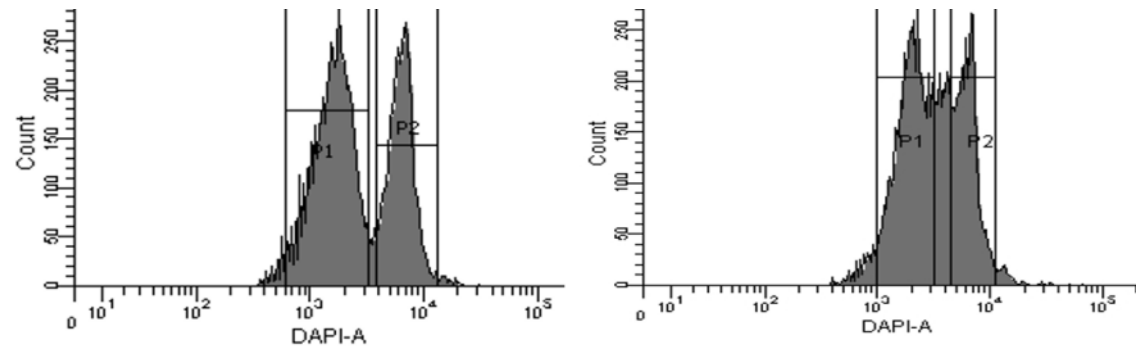
सारांश :

(1) कैटल और भैंस शुक्राणुओं का लिंग–पृथक्कीकरण : हम जर्सी कैटल और मुर्रा भैंसों के एक्स और वाई वाले शुक्राणुओं में सफलतापूर्वक पृथक्कीकरण किया गया। पृथक्कीकरण और इसके वैधकरण के बाद अंतः पात्रे परीक्षण बैटरी का उपयोग करते हुए और कृत्रिम शुक्रसेचन के जरिये पृथक्कीकृत शुक्राणुओं का लक्षण निर्धारण का अध्ययन किया जाएगा। (2) मादा प्रजनन का किसपेप्टिन नियमन : कैटल में संश्लिष्ट किसपेप्टिन देने पर प्लाज्मा एलएच में वृद्धि की पुष्टि होती है कि यह शरीर जैविकी तौर पर सक्रिय है। किसपेप्टिन से उपचार के बाद, किसपेप्टिन की खुराक और मार्ग को इष्टतम करने के लिए जीएनआरएच की तुलना में अंतःस्रावी प्रोफाइल और पुटिकीय गतिकी का अध्ययन किया जाएगा। चूहों में अध्ययन दर्शाते हैं कि लंबे समय तक किसपेप्टिन की अधिक खुराक से संभवतः ऋणात्मक फीडबैक तंत्र के जरिए उपचार किए जाने पर यौवनारंभ में विलंब होता है।

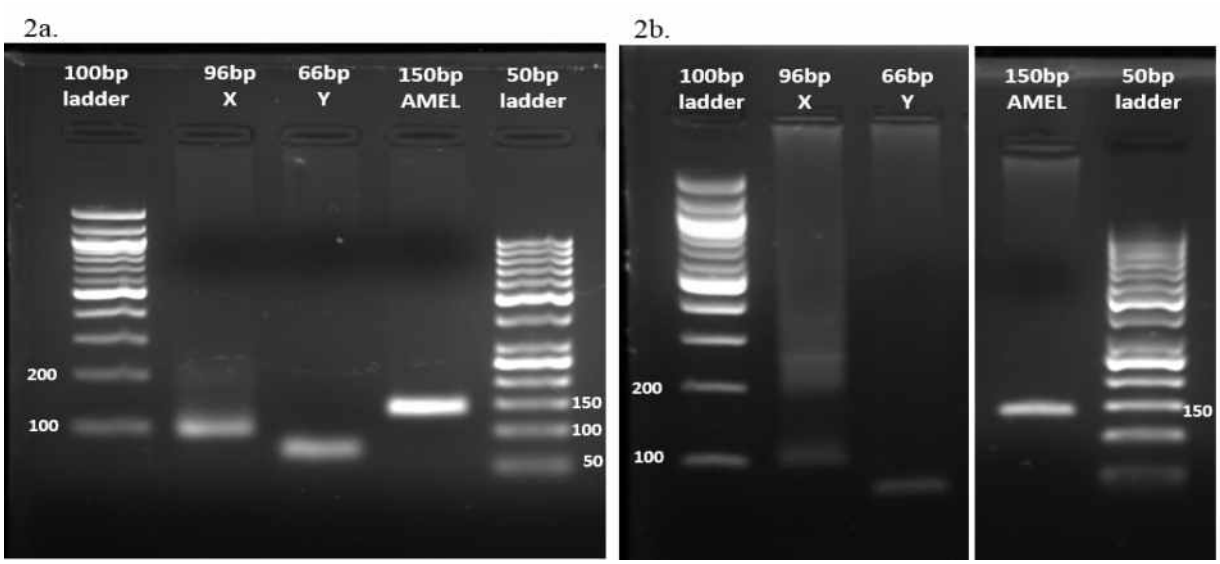
तालिका 1. प्राइमर और एषणी अनुक्रम

प्राइमर / एषणी	अनुक्रम (5' → 3')	उत्पाद का आकार (बीपी)
एक्स गुणसूत्र विशिष्ट प्राइमर और एषणी		
पीएलपी–फार्वर्ड	GTTGTGTTAGTTTCTGCTGTACAATAAAGTG	
पीएलपी–रिवर्स	GATGGCAGGTGAGGGTAGGA	
पीएलपी टॉकमैन एषणी	FAM TGTATACACATAGCCCCTCCCTCTTGGA CC BHQ1	
वाय गुणसूत्र विशिष्ट प्राइमर और एषणी		66
पीएलपी–फार्वर्ड	CCACGTCAAGCGACCCAT	
पीएलपी–रिवर्स	AGAGCCACCTTTCGTCTTCG	
पीएलपी टॉकमैन एषणी	FAM AACGCCTTCATTGTGTGGTCTCGTGA BHQ1	
एएमईएल विशिष्ट प्राइमर और एषणी		150
एएमईएलएफ	CCTGTGCACCCCATCCAG	
एएमईएलआर	CCCGCTTGGTCTTGTCTGT	
एएमईएल टॉकमैन एषणी	FAM CCACAGCCACCTCTGCCTCC BHQ1	

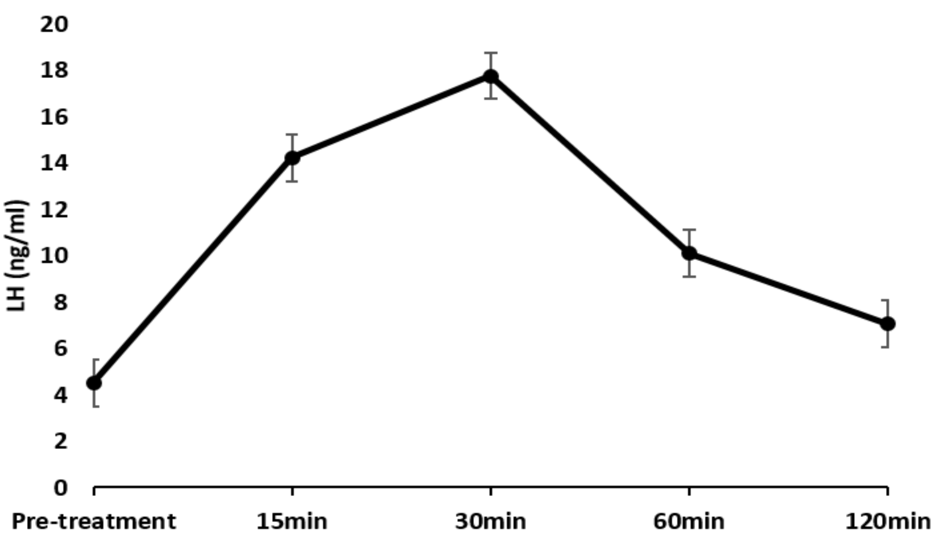
पीएलपी : बोवाइन प्रोटियो – लिपिड प्रोटीन जीन, एसआरवाय : लिंग निर्धारण क्षेत्र वाय; एएमईएल : बोवाइन एमेलोजेनिन क्रम।



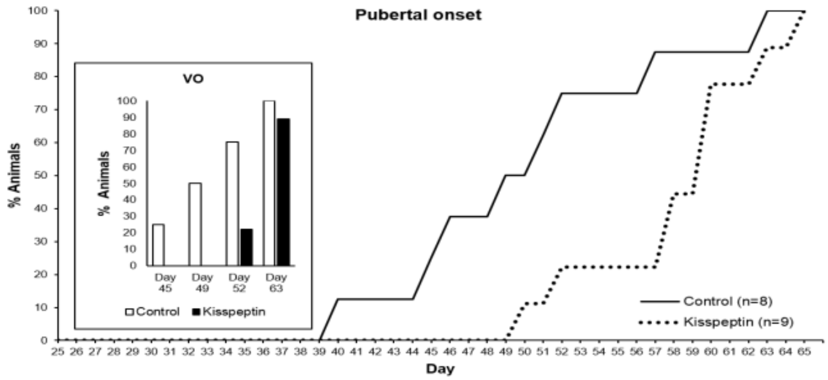
चित्र 1. प्रतिनिधिक हिस्टोग्राम जिसमें मुर्रा शुक्राणुओं की एक्स (पी2 प्रदेश) और वाय (पी1 प्रदेश) आबादियों के सदृश दो शीर्ष दर्शाए गए हैं। शीर्षों को गेट आकार में बनाया गया और दो आबादियों को पृथक किया गया था।



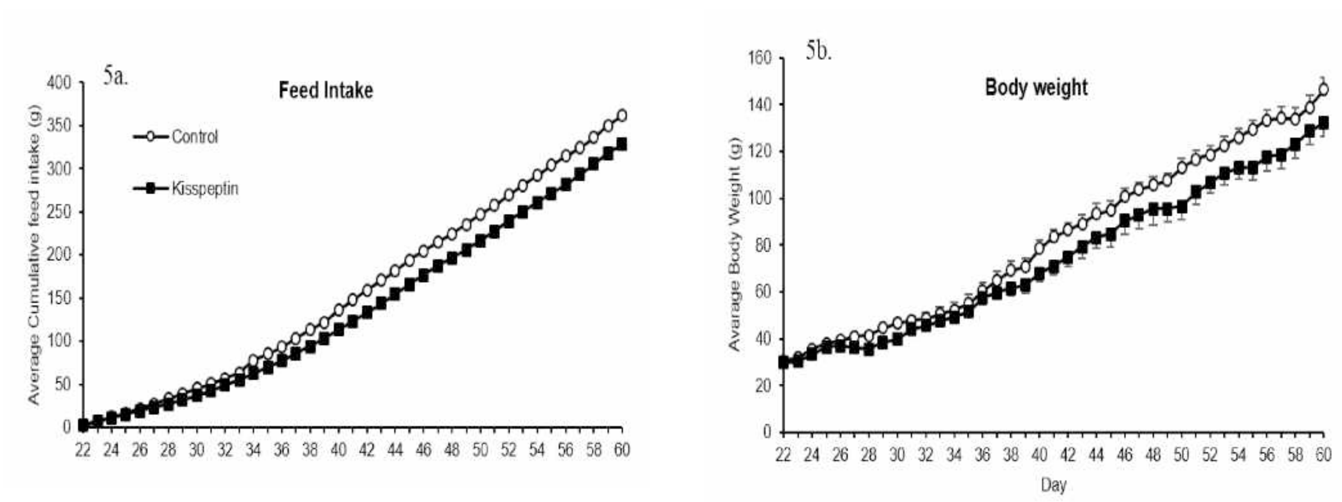
चित्र 2. जर्सी संकरण कैटल (क) और मुर्रा भैंस (ख) जीनोमिक डीएनए से एक्स, वाई, एएमईएल का प्रवर्धन।



चित्र 3. दिओनी कैटल (एन=3) में प्लाज्मा एलएच सांद्रण पर संश्लिष्ट किसपेप्टिन (5 मा. ग्रा. / कि. ग्रा.) को अंतः शिरा देने का प्रभाव।



चित्र 4. मादा चूहों में यौवनारंभ पर किसपेप्टिन परिसरीय तौर पर देने का प्रभाव। लवण या किसपेप्टिन से उपचारित चूहों में 25 दिन से 50 दिन तक वैजाइनल ओपनिंग का दिन नोट किया गया था। नियंत्रण बनाम किसपेप्टिन : पी= 0.01, कप्लान– मीयर उत्तरजीविता विश्लेषण और इसके बाद गेहान – ब्रेसलो परीक्षण। इनसेट : नियंत्रण और उपचारित चूहों के बीच उन पशुओं का प्रतिशत तुलनात्मक था जिनमें यौवनारंभ हुआ : संबंधित समय बिंदुओं पर जब 25, 50, 75 और 100 प्रतिशत चूहों ने वीओ दर्शाई, केवल 89 प्रतिशत उपचारित चूहों में ही वीओ दिखाई दी।



चित्र 5. आहार की मात्रा और शरीर के भार पर किसपेप्टिन परिसरीय तौर पर देने का प्रभाव। 25 दिन से 50 दिन तक लवण या किसपेप्टिन दिया गया। (क) औसत संचयी आहार मात्रा। नियंत्रण बनाम किसपेप्टिन : पी 0.01 से कम, टू–वे एनोवा। (ख) शरीर का औसत भार। नियंत्रण बनाम किसपेप्टिन : पी 0.01 से कम, टू–वे एनोवा।

जैव सूचना विज्ञान

मार्कर की खोज और तुलनात्मक जीनोमिक्स के लिए अनुक्रम आंकड़ों का विश्लेषण करना

अन्वेषक	सरवार आजम	वैज्ञानिक बी
सदस्य	वीरा नरसिंहा राव	परियोजना अध्येता
	हिता वर्मा	परियोजना अध्येता
सहयोगकर्ता	गिरिश राधाकृष्णन	एनआईएबी
	सतीश कुमार	एनआईएबी

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

परियोजना 1 : रिवर बुबेलिस (बुबेलिस बुबेलिस) के लिए मार्कर खोज, जीन अंतराल अन्वेषण और वैब संसाधन तैयार करना

रिवर बुबेलिस में तथाकल्पित माइक्रोसैटेलाइट मार्करों का इन सिलिको खनन

आवृत्ति निर्बंधनों के पैरामीटर जैसे मोनो– के लिए न्यूनतम दस आवृत्ति, डि – के लिए न्यूनतम छह आवृत्ति, ट्राइ – के लिए न्यूनतम पांच आवृत्ति, ट्राइ –,टेट्रा–,पेंटा– और सामान्य एसटीआर के लिए हैक्सा– न्यूक्लिओटाइड के साथ माइक्रोसेटेलाइट (एमआईएसए) के उपयोग से छोटी आवृत्तियों के लिए, रिवर बफेलो के जीनोम अनुक्रमों का खनन किया गया था। कुल 982,593 आवृत्तियां हुई जिनमें से 94,929 जटिल एसटीआर थे (तालिका 1)। टीकाकृत एसटीआर के डिजाइनों का वितरण और उनका आकार तालिका 2 और चित्र 1 में संक्षेप में दिए गए हैं।

प्रत्येक टीकाकृत एसटीआर का निम्नलिखित कसौटियों का पालन करते हुए प्राइमर 3 वी 2.3.6 का उपयोग करते हुए प्राइमर युग्म बनाया गया था। 1. 50 –65 डिग्री से. के बीच अनीलन तापमान, और इष्टतम तापमान 60 डिग्री से. था; 2. उत्पाद का आकार 100 आधार बिंदु से 350 आधार बिंदु; 3. प्राइमर की लंबाई 18 आधार बिंदुओं से लेकर 24 आधार बिंदु जिसमें इष्टतम लंबाई 20 आधार बिंदु थी; 4. 40–60 प्रतिशत की रेंज में जीसी प्रतिशत मात्रा। संबंधित एसटीआर के लिए कुल 880528 प्राइमर युग्म सफलतापूर्वक सृजित किए गए थे जिन्हें इसके वैधकरण और जीनोटाइपिंग के लिए उपयोग में लाया जा सकता है।

बफेलो जीनोमिक शोध के लिए डेटाबेस तैयार करना

भारत में 105.1 मिलियन भैंस हैं और ये विश्वभर में भैंसों की कुल आबादी का 59 प्रतिशत हैं। भैंसों की जीनोमिक्स को बढ़ावा देने के लिए, हमने ''भैंस बेस'' के नाम से जीनोमिक्स संसाधनों का व्यापक डेटाबेस तैयार करने की पहल की है। इस डेटाबेस से भैंसों की नस्लों के भीतर और नस्लों के बीच जीनोम व्यापी मार्कर सूचना और भिन्नताएं मिलेंगी। इस वेब संसाधन से जीन और अन्य जीनोमिक संरचना के लिए दृष्टिपात, तुलना अथवा नए मूल्यांकनों में मदद मिलेगी (चित्र 2ए)।

डेटाबेस संरचना

भैंसबेस, पोस्ट ग्रीएसक्यूएल ऑब्जेक्ट– रिलेशनल डेटाबेस प्रबंधन प्रणाली का उपयोग करते हुए जावा एनवायर्नमेंट में विकसित किया गया है (चित्र 2 बी)। जे ब्राउज उपकरण, जो जावा में तीव्र एंबेडेड जीनोम ब्राउजर है, को जीनोम अनुक्रम और इसकी संरचना को देखने और अन्वेषण के लिए भैंसबेस में एकीकृत किया गया है। सदृश अनुक्रमों और तुलनात्मक जीनोमिक्स की खोज करने के लिए, डेटाबेस से ब्लास्ट सर्वर स्थापित किया गया है। जेएसपी, जक्वेरी और सीएसएस में ग्राफिकल यूजर इंटरफेस (जीयूआई) विकसित किया गया है। इस वेब एप्लीकेशन को लगाने के लिए एपोचे वेब सर्वर का उपयोग किया गया है।

भैंसबेस 7,718 जीनोमिक्स अनुक्रमों से समृद्ध है जो वाटर बफेलो का स्कैफोल्डेड– स्तरीय संचयन है। यह 982,593 टीकाकृत एसटीआर से भी समृद्ध है। सभी एसटीआर अपने फ्लैंकिंग प्राइमरों के साथ भैंसबेस के ब्राउजर टेब का उपयोग कर देखे जा सकते हैं।

रिवर बफेलो में जीनों का टीका–टिप्पणी और अभिव्यक्ति विश्लेषण

जीन अंतराल का अन्वेषण करने और सटीक जीन मॉडलों के बारे में पूर्वकथन करने के लिए, हमने इन सिलिको जीन पूर्वकथन किया जो एक प्राथमिक पूर्वकथन है और इसके परिणामतः वाटर बफेलों की जीनोम में जीन की संख्या काफी अधिक (लगभग 58489) हो गई। अतः जीन टीका के लिए व्यापक उपागम अपनाया गया है जिसमें आरंभिक जीन पूर्वकथन, सहधर्मिता आधारित जीन पूर्वकथन और प्रमाण आधारित जीन पूर्वकथन शामिल हैं। इस संबंध में, हमने एनसीबीआई से नेक्स्ट जनरेशन सिक्वेंसिंग (एनएसजी) के उपयोग से बफेलों के 30 भिन्न सृजित ऊतकों के अभिव्यक्ति आंकड़े एकत्र किए हैं। हम सभी जीनों और जीनोम में उनकी संरचना और वितरण के पूर्वकथन के लिए टेक्सिडो प्रोटोकॉल और एविडेंस मॉडलर (ईवीएम) का उपयोग कर रहे होंगे। इस सूचना को डेटाबेस में मिला दिया जाएगा जिससे प्रयोक्ता को मार्कर का सीधे चुनाव करने में मदद मिलेगी जो जीन के अंदर अथवा रुचि के जीन के समीप पाया जाता है।

परियोजना 2 : ब्रूसेला मेलिटेंसिस उपभेद बीएम आईएनडी1 का तुलनात्मक जीनोमिक्स

बीएम आईएनडी1 के गुणसूत्रीय स्तरीय संचयन का विकास

ब्रूसेला मेलिटेंसिस उपभेद बीएम आईएनडी1 का स्काफोल्ड स्तरीय संचयन एक्सेशन जेएमकेएल 00000000 के तहत जीनबैंक में दिया गया था। गुणसूत्र स्तरीय संचयन सृजित करने के लिए, दो ब्रूसेला गुणसूत्रों को उपयुक्त क्रम और उन्मुखीकरण के साथ स्केफोल्ड दिए गए थे। यह हासिल करने के लिए, हमने बी. मेलिटेंसिस 16 एम और चीन से बी. मेलिटेंसिस आइसोलेट के जीनोमों पर विचार किया; इन दोनों जीनोमों को पूर्व में अन्य उपभेदों के लिए संदर्भ जीनोम के रूप में उपयोग में लाया गया था। हमने बाउटी 2 का उपयोग करते हुए दोनों जीनोम पर बीएम आईएनडी1 के गैर प्रक्रमित आंकड़ों को संरेखित किया और एसएनपी की पहचान की। इस विश्लेषण से बीएम आईएनडी1 और बी. मेलिटेंसिस 28 एम के बीच 298 अत्यधिक गुप्त एसएनपी मिले जबकि बीएम आईएनडी1 और बी. मेलिटेंसिस 16 एम के बीच विश्लेषण से 2806 एसएनपी की पहचान हुई। क्योंकि बी. मेलिटेंसिस एम 28 में सबसे कम एसएनपी दिखाई दिए जिससे न्यूनतम आनुवंशिकी अपसरण का संकेत मिलता है, हमने इस उपभेद के जीनोम को बीएम आईएनडी1 के गुणसूत्रीय संचयन के लिए संदर्भ के रूप में उपयोग के लिए चुना। गुणसूत्र 1 और 2 पर दिए गए स्केफोल्ड की कुल संख्या क्रमशः 24 और 6 है। इसके बाद, संचयन के मैनुअली ठीक किया गया जिसमें उन स्केफोल्ड्स पर फोकस दिया गया जिनमें डुप्लीकेशन को सही करने के लिए अधिक शारीरिक कवरेज दिखाई दिया था। हमने स्काफोल्ड 20 का डुप्लीकेशन और बी. मेलिटेंसिस एम 28 जीनोम के संबंध में गुणसूत्र 1 पर स्केफोल्ड 22 का बड़े हिस्से का अंतर्वर्तन देखा। इसके बाद, हमने बी. मेलिटेंसिस एम 28, बी. मेलिटेंसिस 16 एम और बीएम आईएनडी1 के जीनोम को संरेखित किया और व्यष्टि स्तरीय सिंटनी और बड़ी जिनोमिक पुनः व्यवस्थाएं देखीं। वास्तव में, गुणसूत्र 2 पर बी. मेलिटेंसिस 16 एम के क्षेत्र को छोड़कर ये एक–दूसरे के प्रति काफी सिंटेनिक थे जो बी. मेलिटेंसिस एम28 और बीएम आईएनडी1 में प्रतिवर्ती उन्मुखीकरण में था।

पूर्ण जीनोम जातिवृत्त

एनसीबीआई www.ncbi.nlm.nih.gov द्ध से बी. मेलिटेंसिस 16 एम, बी. मेलिटेंसिस एम28 बी. मेलिटेंसिस एम 5–90, बी. मेलिटेंसिस एटीसीसी 23457 और बी. एबोर्टस 2308 डाउनलोड किए गए थे। डिफाल्ट पैरामीटरों का उपयोग करते हुए जीनों को एकत्र करने के लिए मूल जीनोम और एक कॉपी आर्थोलोग्स, ऑर्थोमल वी 1.4 का उपयोग किया गया था। हमने निम्नलिखित प्रकाशित एप्रोच का अनुसरण करते हुए अधिकतम सादृश्यता वृक्ष की रचना करने के लिए 2509 एकल प्रति ऑर्थोलॉग्स का उपयोग किया (ग्रीवी एट अल 2011 पीएलओएस कंप्यूटर बॉयोल 7 : ई 1002269)।

3140 जीन परिवारों में बी. मेलिटेंसिस उपभेदों के कुल 15637 जीन एकत्र किए गए थे जिनमें से 2760 जीन ने प्रत्येक उपभेद में एकल प्रति ऑर्थोलॉजी दिखाई दी। सभी पांच उपभेदों में 2781 जीन मौजूद थे जिन्हें बी. मेलिटेंसिस क्लेड के मूल जीनोम के रूप में विचार किया जा सकता है। हमने पूर्ण जीनोम जातिवृत्ति के लिए आउट–समूह के तौर पर बी. एबोर्ट्स 2308 का उपयोग किया जिससे 3250 के जीनों के कुल संग्रह में बढ़ोत्तरी हो गई। बी. एबोर्ट्स उपभेद को शामिल करने के बाद, एकल प्रति ऑर्थोलॉग्स की कुल संख्या घटकर 2523 जीन हो गई। बी. मेलिटेंसिस उपभेदों में 2308 विशेष जीन परिवार थे, जिसका बी. मेलिटेंसिस क्लेड और इसके पोषद विशिष्टता के विकास में योगदान हो सकता है। जातिवृत्ति का अनुमान लगाने के लिए हमने 2523 एकल प्रति ऑर्थोलॉग्स पर विचार किया। जाति– आनुवंशिक वृक्ष में, बी. मेलिटेंसिस एम 28 और बी. मेलिटेंसिस एम 5–90, बीएम आईएनडी1 के साथ एकत्र हुए (चित्र 4)। वृक्ष के शाखा पैटर्न पर विचार करते हुए, यह प्रतीत होता है कि एशिया से बी. मेलिटेंसिस आइसोलेट्स के बीच काफी अधिक आनुवंशिक विविधता मौजूद है।

एसएनपी की पहचान

हमने एसएनपी विश्लेषण के लिए बी. मेलिटेंसिस 16 एम, बी. मेलिटेंसिस एम28, बी. मेलिटेंसिस एटीसीसी 23457, बी. मेलिटेंसिस एम 5–90, बी. मेलिटेंसिस एनआई, बी. मेलिटेंसिस एडमास– जी 1 और बी. एबोर्टस 2308 के जीनोम अनुक्रम डाउनलोड किए। हमने म्यूमर 3 पैकेज से न्यूकूमर और शो–एसएनपीएस कार्यक्रम के उपयोग से दो संदर्भ अनुक्रमों के लिए एसएनपी तलाशने के लिए एक पाइपलाइन की स्थापना की। शो– एसएनपीएस केवल विशेष संरेखित क्षेत्रों से ही एसएनपी प्रदान करते हैं। संदर्भ के तौर पर बीएम आईएनडी1 के लिए प्रत्येक उपभेद से एसएनपी निष्कर्षित किए गए थे और जीनोम में एसएनपी प्रभावों के बारे में पूर्वकथन करने के लिए एसएनपीईएफएफ का उपयोग करते हुए आगे टीका की गईं।

निष्कर्षित एसएनपी का वितरण तालिका 3 में प्रस्तुत किया गया है।

इनडेल विश्लेषण

जीनोम अनुक्रम में अन्तर्वेशन और विलोपन का पता लगाने के लिए, बीएम आईएनडी1 रीड्स का उपयोग करते हुए बी. मेलिटेंसिस एम 28 के खिलाफ सृजित वीसीएफ फाईल को एसएनपीईएफएफ से टीका किया गया। कोडिंग क्षेत्र में इनडेल और बी. मेलिटेंसिस एम 28 टीकाओं की फाइल से उनके संबंधित कार्य, हाउस पर्ल स्क्रिप्ट में उपयोग करते हुए निष्कर्षित किए गए थे। हमने बी. मेलिटेंसिस एम 28 के संबंध में बीएम आईएनडी1 जीनोम में 119 इनडेल की पहचान की है जिनमें से 92 नॉन–कोडिंग क्षेत्र में और 27 कोडिंग क्षेत्र में अवस्थित हैं।

परियोजना 3 : ब्रूसेला टीका तैयार करने के लिए प्रतिरक्षी प्रमुख प्रोटीनों की पहचान

ब्रूसेला मेलिटेंसिस मानव में सर्वाधिक उग्र प्रजातियां हैं, जो प्रमुखतः बकरी को प्रभावित करते हैं और अपाश्चुरीकृत दुग्ध

उत्पादों के अंतर्ग्रहण अथवा विष्ठा ऊतकों के सीधे संपर्क में आने से जूनोटिक संचरण होता है। अतः, हमने उन प्रोटीनों को पहचानने का प्रयास किया जिनमें बी. मेलिटेंसिस रोगकारकों में शामिल होने की संभावना है, जो कैंडीडेट टीका के लिए अच्छा नया लक्ष्य है। प्रोटीन टीका कैंडीडेट्स (पीवीसी) तलाशने के लिए कार्यप्रवाह स्थापित किया गया है (चित्र 5)।

बीएम आईएनडी1 से यथाकल्पित टीके की पूर्व जांच

बी. मेलिटेंसिस एक ग्राम–नेगेटिव जीवाणु है। आम तौर पर, बाहरी झिल्ली प्रोटीन (ओएमपी) और ग्राम नेगेटिव जीवाणु के स्रावी प्रोटीन उग्रता और रोगजनकता में महत्वपूर्ण भूमिका अदा करते हैं। ये जीवाणु एनवलप की अखंडता और स्थिरता, सब्स्ट्रेट एवं पोशक तत्वों के निश्क्रिय एवं सक्रिय संचरण, कोशिका–से–कोशिका संप्रेशण, पोषद कोशिकाओं से आसंजन और उग्रता में शामिल होते हैं।

सभी ओएमपी और स्रावी प्रोटीनों की जांच करने के लिए, दो वैश्विक कार्यक्रमों यथा पी–सोर्ट सॉफ्टवेयर वी 3.0 ; ीजजचरूध्ध्ूण्चेवतजण्वतहध्चेवतजइध्द्ध और सेलो वी 2.5 द्वारा बीएम आईएनडी1 उपभेद के जीन का विश्लेषण किया गया। इसके उप–कोशिकीय स्थानीयकरण के लिए बीएम आईएनडी1 के प्रत्येक जीन का लक्षण– निर्धारण किया गया (तालिका 4) और किसी एक सॉफ्टवेयर द्वारा जीन के व्यापक सैट का लक्षण निर्धारण किया गया था क्योंकि इन हाउस पर्ल स्क्रिप्ट के प्रयोग से बाहरी झिल्ली अथवा स्रावी जीन फिल्टर किए गए थे (चित्र 6)।

सारांश

बी. मेलिटेंसिस आईएनडी1 उपभेद के हासिल किए गए और जातिवृत्त, एसएनपी और इनडेल के लिए अन्य ब्रूसेला उपभेदों के साथ इनकी तुलना की गई। यह विश्लेषण ''एनालाइज दी जेनेटिक डाइवर्सिटी ऑफ ब्रूसेला मेलिटेंसिस एण्ड ब्रूसेला एबोर्ट्स स्ट्रेन्स इन इंडिया'' नामक परियोजना का भाग है। इसके अलावा, टीके तैयार करने के लिए बी. मेलिटेंसिस आईएनडी1 के प्रतिरक्षी प्रमुख जीनों की पहचान करने के लिए एक प्रतिवर्ती वैक्सीनोलॉजी एप्रोच का उपयोग किया गया है। दूसरी ओर, बफेलो जीनोमिक्स के लिए डेटाबेस तैयार किया गया है और इसे एसटीआर मार्करों से समृद्ध किया गया। इसके अतिरिक्त, भैसों में जीन टीका का एक प्रयास किया गया है और उनके अभिव्यक्ति अध्ययन किए जा रहे हैं।

तालिका 1 : एसटीआर की पहचान का संक्षेपपरीक्षित अनुक्रमों की कुल संख्या7718परीक्षित अनुक्रमों का कुल आकार (बीपी)2615754706पहचाने गए एसएसआर की कुल संख्या 982593एसएसआर वाले अनुक्रमों की संख्या 41251 से अधिक एसएसआर वाले अनुक्रमों की संख्या 3410मिश्रित रचना में मौजूद एसएसआर की संख्या94929

तालिका 1 : एसटीआर की पहचान का संक्षेप

परीक्षित अनुक्रमों की कुल संख्या	7718
परीक्षित अनुक्रमों का कुल आकार (बीपी)	2615754706
पहचाने गए एसएसआर की कुल संख्या	982593
एसएसआर वाले अनुक्रमों की संख्या	4125
1 से अधिक एसएसआर वाले अनुक्रमों की संख्या	3410
मिश्रित रचना में मौजूद एसएसआर की संख्या	94929

तालिका 2 : उनके आकारों पर आधारित एसटीआर की आवृत्ति

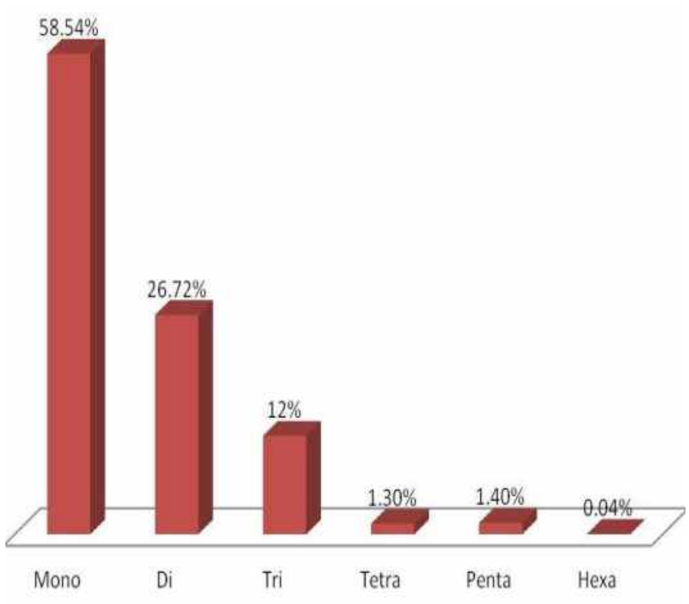
एसटीआर का आकार	एसटीआर की संख्या
< 10	505,129
11-13	265,262
14-16	130,904
17-25	74,398
>25	6,900

तालिका 3 : बीएम आईएनडी1 के संबंध में अन्य बी. मेलिटेंसिस आइसोलेट्स और बी. एबोर्टस 2308 में पाया गया एसएनपी

प्रजातियां	एसएनपी की कुल संख्या
ब्रूसेला मेलिटेंसिस 16एम	2561
ब्रूसेला मेलिटेंसिस एम 28	280
ब्रूसेला मेलिटेंसिस एम 5–90	300
ब्रूसेला मेलिटेंसिस एनआई	351
ब्रूसेला मेलिटेंसिस एटीसीसी 23457	252
ब्रूसेला मेलिटेंसिस एडीएमएएस– जी 1	2366
ब्रूसेला एबोर्टस 2308	6047

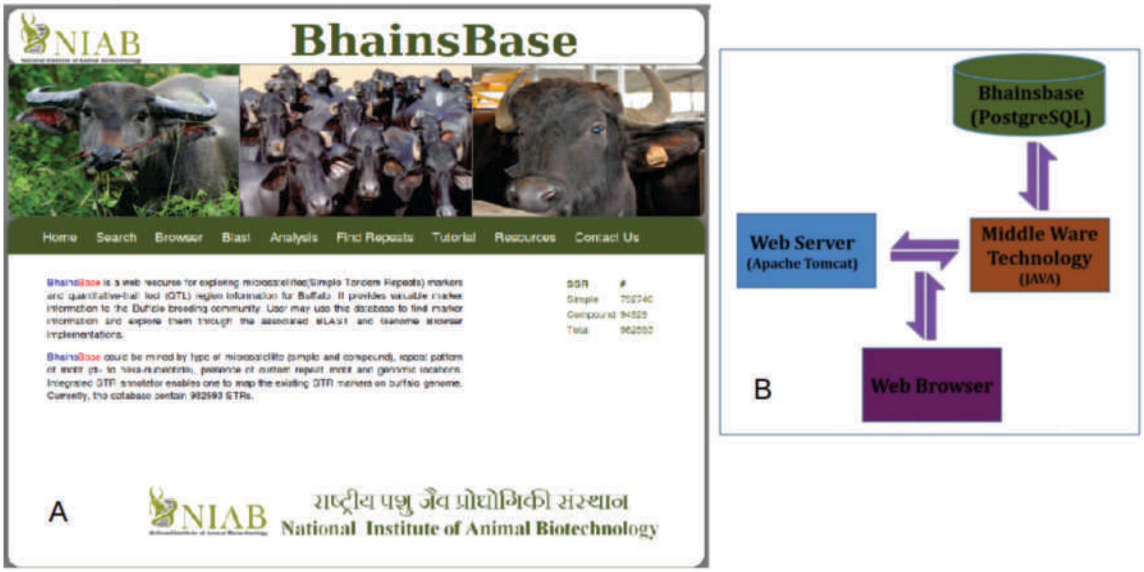
तालिका 4 : बीएम आईएनडी1 जीनों का उपकोशिकीय स्थानीयकरण

उपकोशिकीय स्थानीयकरण	पीएसओआरटीबी से पूर्वकथित प्रोटीन	सीईएलएलओ से पूर्वकथित प्रोटीन
कोशिकाद्रव्य	1448	2269
पेरीप्लाज्मिक	101	406
आंतरिक झिल्ली	745	521
अतिरिक्त कोशिकीय	18	46
बाहरी झिल्ली	34	71
अज्ञात	967	–
कुल	3313	3313

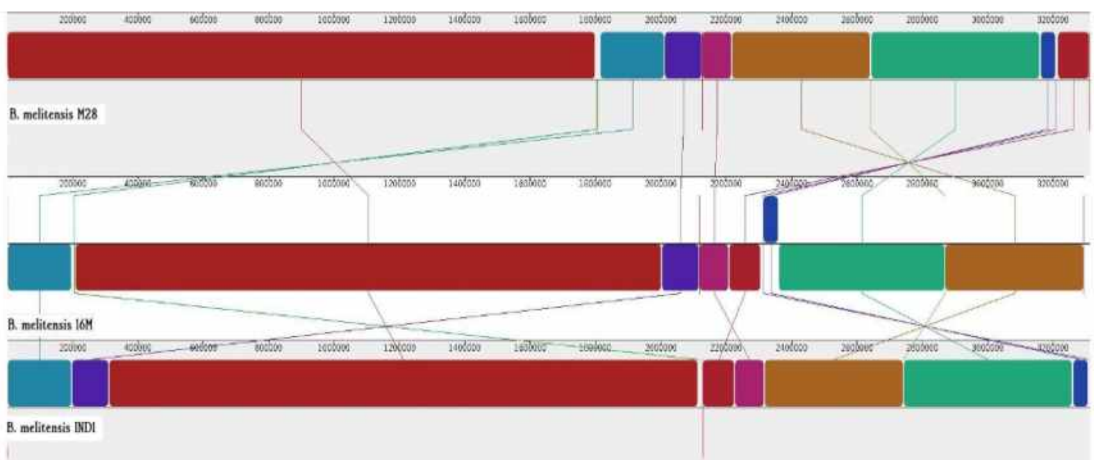


चित्र 1. रिवर बफेलो में एसटीआर मोटिफ का वितरण

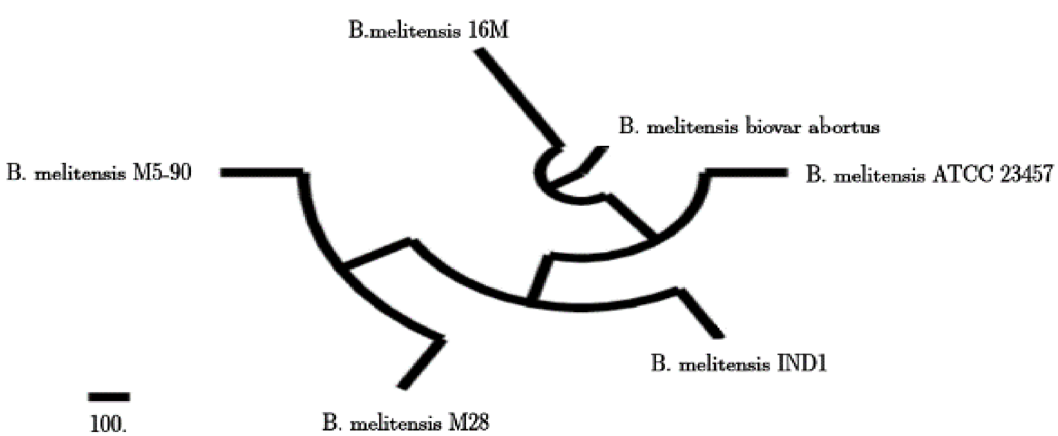
चित्र 1. रिवर बफेलो में एसटीआर मोटिफ का वितरण



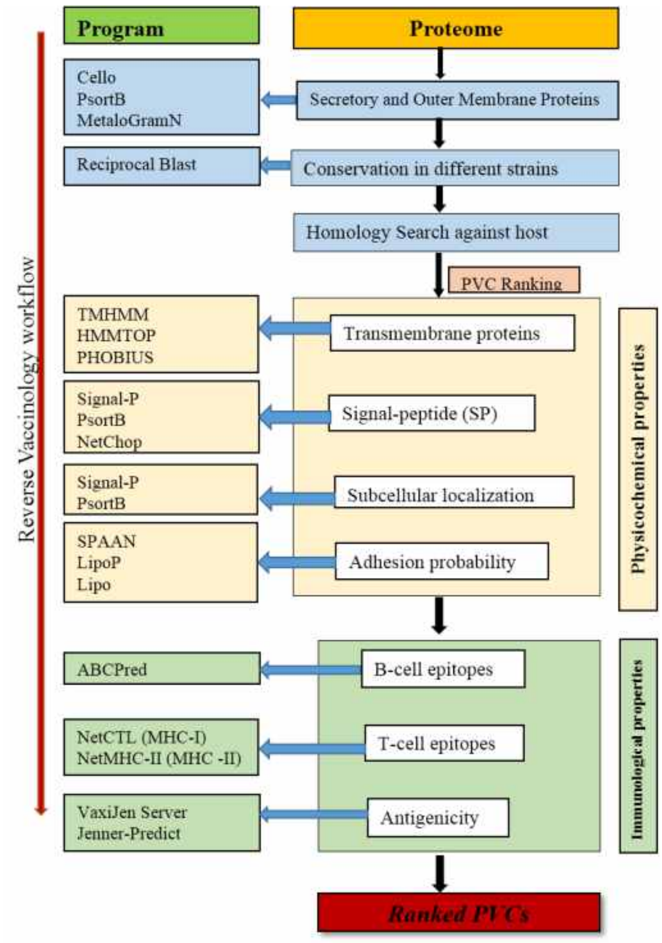
चित्र 2 (ए) भैंसबेस के होमपेज का स्नैपशॉट, (बी) भैंसबेस की तीन स्तरीय स्कीमा संख्या।



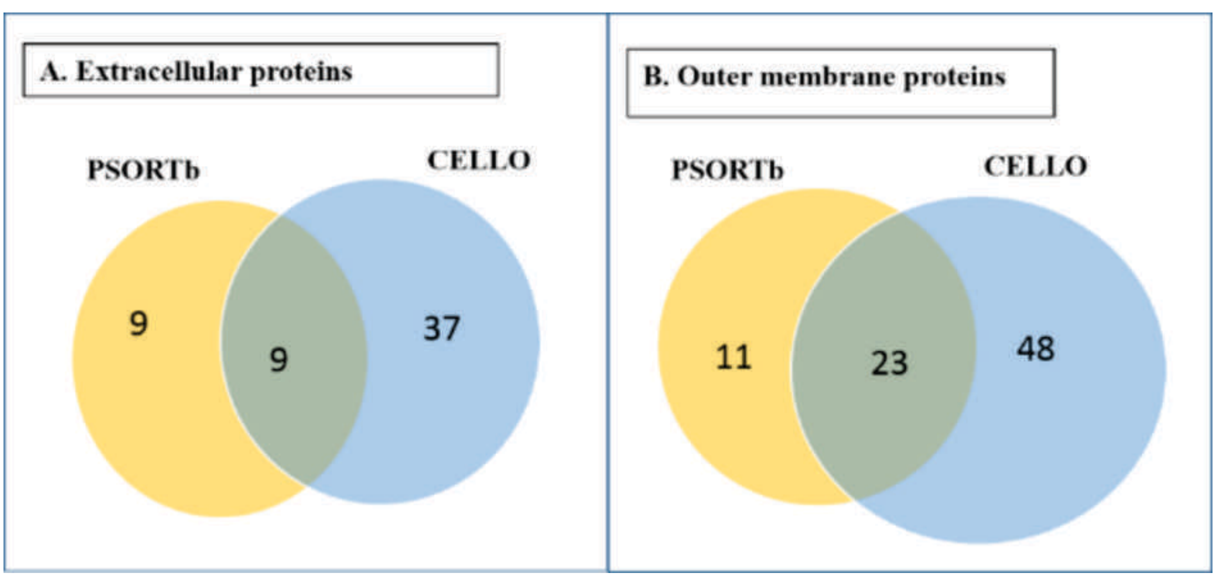
चित्र 3. बी. मेलिटेंसिस 16एम, बी. मेलिटेंसिस 28एम और बी. मेलिटेंसिस आईएनडी1 जीनोम का संरेखण। बीएम आईएनडी1 और बी. मेलिटेंसिस 28 एम एक–दूसरे से भलीभांति संरेखित हो गए, तथापि, बीएम आईएनडी1 के गुणसूत्र 2 पर एक क्षेत्र (नीले रंग के ब्लॉक) बी. मेलिटेंसिस 16एम में प्रतिवर्ती उन्मुखीकरण में है।



चित्र 4. बी. मेलिटेंसिस आईएनडी1 और अन्य बी. मेलिटेंसिस उपभेद एवं बी. एबोर्ट्स 2308 के बीच संबंध दर्शाने वाला फाइलोजेनेटिक वृक्ष। बी. एबोर्ट्स 2308 पर लगा अधिकतम – सदृश्यता वृक्ष मूल जीनोम मल्टीपल संरेखण पर आधारित है।



चित्र 5. तुलनात्मक जीनोमिक्स और प्रतिरक्षा सूचना विज्ञान उपागमों का उपयोग करते हुए टीके प्रत्याशी की पहचान करने और उनको रैंक देने के लिए कार्य प्रवाह की प्रस्तुति।



चित्र 6. पीएसओआरटीबी और सीईएलएलओ का उपयोग करते हुए पूर्वकथित बीएम आईएनडी1 के (ए) बाह्य कोशिकीय और (बी) बाहरी झिल्ली प्रोटीनों को दर्शानेवाला वैन डायग्राम।

सहयोगात्मक अनुसंधान परियोजनाएं

दुग्ध स्राव के दौरान पष्चजनन संबंधी विनियमन और दूध जैव संष्लेशण पर इसके प्रभाव पर अध्ययन

पशु जीवविज्ञान विभाग, स्कूल ऑफ लाइफ साइंस, हैदराबाद विश्वविद्यालय, हैदराबाद

प्रधान अन्वेषक :	श्रीनिवासुलु कुरुकुटी	एसोसिएट प्रोफेसर
पीएच.डी छात्र :	त्रिनंद राव एस	पीएच.डी छात्र, एसआरएफ
	सुभालक्ष्मी मोहंती	पीएच.डी छात्र, एसआरएफ
अन्य सदस्य :	अमित किरी	जेआरए
	मौनिका चिडिपी	जेआरएफ
सहयोगाकर्ता :	ब्रह्मानंदम एम	सहायक प्रोफेसर, एचसीयू
	परेश शर्मा	वैज्ञानिक सी, एनआईएबी

उद्देश्य

भारत विश्व में दुग्ध और दुग्ध उत्पादों का सबसे बड़ा उत्पादक और उपभोक्ता है। इससे भारतीय परिदश्य में दूध की पोषक और आर्थिक महत्व का पता चलता है। दुग्ध जैस संश्लेषण के जटिल प्रक्रिया है जिसमें विभिन्न हार्मोनी एवं संबंधित कारक अंतःक्रिया करते हैं। सभी संघटकों में से दुग्ध प्रोटीन (केसीन) और दुग्ध शर्करा (लेक्टोज) जैव संश्लेषण अधिकांशत हार्मोनी नियंत्रण में हैं। प्रोलेक्टिन (पीआरएल) एक प्रमुख लेक्टोजेनिक हार्मोन है जबकि वृद्धि हार्मोन (जीएच) और इंस्यूलिन–सदृश कारक (आईजीएफ) विनियमन में भी शामिल होते हैं। चूंकि स्तन्यस्रवण की प्रक्रिया, स्तनपायी प्रजातियों के काफी अधिक संरक्षित पाई गई है, गर्भस्थ चूहों की स्तन उपकला कोशिकाओं से व्युत्पन्न एचसी11 कोशिकाओं को मॉडल प्रणाली के रूप में चुना गया था। दुग्ध जैव संश्लेषण में शामिल जीनों और उनके मार्गों का व्यापक प्रोफाइल बनाने के लिए, हमरा फोकस मुख्य रूप से सामान्य से जीनोम व्यापी अभिव्यक्ति प्रोफाइल द्वारा पीआरएल संकेतन के प्रति प्रतिक्रिया में माउस स्तनपायी उपकला कोशिका लाइन एचसी11, पीआरएल– उद्दीपित और स्टेट 5 एल्फा रहित एचसी11 कोशिकाओं में जीन अभिव्यक्ति प्रोफाइल बनाने पर है। तब हमें पीआरएल शोधन की प्रतिक्रिया में स्तनपायी उपकला कोशिकाओं में भौतिक जीन अंतःक्रिया मानचित्रण का निर्धारण करना होगा जिससे सक्रिय अनुलेखन केंद्रों के स्थलों के सह प्रकार्य और सह–विनियमित जीनों को अलग रूप से अभिव्यक्त करने के क्लस्ट्रिंग पैटर्न का पता चलता है। इसके बाद, हम एचआईसी प्रक्रिया के निष्पादन द्वारा पीआरएल उद्दीपन के दौरान क्रोमेटिन के वैश्विक पुनः गठन का निर्धारण करेंगे। हमें दुग्ध जैव संश्लेषण में शामिल उन जीन उत्पादों एवं मार्गों को वैध करना होगा जो मार्गों के संरचनात्मक हेर–फेर करने में हमारे लिए मददगार हैं और इससे दुग्ध उत्पादन की गुणवत्ता एवं परिमाण, दोनों में बढ़ोत्तरी होती है। अंततः उपरोक्त उद्देश्यों से प्राप्त परिणामों को मिलाकर, हम स्तन्यस्रवण के दौरान जीनोम के संरचनात्मक और प्रकार्यात्मक गठन और कोशिका टाइप– विशिष्ट जीन अभिव्यक्ति कार्यक्रम से इसके संबंध का एकीकृत परिप्रेक्ष्य प्रदान करना चाहेंगे। इसके उद्देश्य संक्षेप में नीचे दिए गए हैं :

(1) प्रोलेक्टिन संकेतन की प्रतिक्रिया में स्तन उपकला कोशिकाओं में जीन अभिव्यक्ति प्रोफाइलिंग।

(2) प्रोलेक्टिन उपचार की प्रतिक्रिया में स्तन उपकला कोशिकाओं में भौतिक जीन अंतःक्रिया मानचित्रण का निर्धारण।

(3) दुग्ध जैव–संश्लेषण में शामिल जीन उत्पादों एवं मार्गों का वैधकरण।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (31 मार्च, 2014 तक)

माउस स्तन प्राथमिक उपकला कोशिका लैक्टोजेनिक विभेदन विधि को इष्टतम बनाया गया और ज्ञात विभेदक मार्कर जीनों जैसे केसिन और वैप. के साथ इसे सफलतापूर्वक वैध ठहराया गया। सामान्य और पीआरएल उपघटित एचसी11 कोशिकाओं से जीन अभिव्यक्ति प्रोफाइलों का सूक्ष्म आमापन विश्लेषण किया गया। विश्लेषण से पीआरएल अपघटित लेक्टोजेनिक विभेदन पर विभिन्न जैविक मार्गों के चयनात्मक अपघटन का पता चला। इससे अधिक महत्वपूर्ण है, सामान्य और पीआरएल अपघटित एचसी11 कोशिकाओं के बीच आरएमए अभिव्यक्ति मानों पर आधारित जीनों को छांटना और जैविक मार्ग विश्लेषण के साथ इसके संबंधों से विशिष्ट जैविक मार्ग जीनों के बीच प्रबल सहसंबंध का पता चला है जिसके काफी अधिक सदृश जीन अभिव्यक्ति स्तर हैं जो इस तथ्य को पुनर्बलित करते हैं कि किसी विशिष्ट जैविक मार्ग से संबंध रखने वाले जीन का अनुलेखनों के सदृश तत्वयोगमितीय स्तर होते हैं, जिससे उनके समन्वित अनुलेखन नियंत्रण के लिए केंद्रक के भीतर सह–विनियमित और सह–प्रकार्यात्मक जीनों के समूहन के विचार

को पुनर्बलित होता है। हमने, इसके अलावा, राइबोसोमल प्रोटीन जीनों के उदाहरण से सामान्य और पीआरएल अपघटित एचसी 11 कोशिकाओं के बीच उच्च सदृश अभिव्यक्ति स्तर की मौजूदगी दर्शाइ है। इससे इस धारणा को आधार मिलता है कि अनुलेखन आउटपुट के सदृश तत्वयोगमितीय स्तरों की प्राप्ति के लिए जीन, केंद्रक के भीतर एकत्र होते हैं। इस धारणा की जांच करने के लिए, यह महत्वपूर्ण है कि सामान्य और पीआरएल अपघटित एचसी11 कोशिकाओं में जीनोम के 3–आयामी गठन का अध्ययन किया जाए। इस उद्देश्य के लिए, हमने सामान्य और पीआरएल अपघटित एचसी11 कोशिकाओं, दोनों से एचआईसी लाइब्रेरियां भी सृजित की हैं, जिन्हें उच्च थ्रूपुट युग्मित और अनुक्रमण सेवा के लिए भेजा गया था। हमने 4सी और एचआईसी डेटा विश्लेषण की पाइपलाइन को और अधिक उन्नत बनाया और एचआईसी डेटा सैटों के विश्लेषण के लिए इसका उपयोग किया जाएगा। हमने कुमारी, गर्भस्थ और स्तन्यस्त्रवण वाले माउस स्तन ऊतकों के लिए माउस स्तन उपकला कोशिकाओं को पृथक करने के लिए अपेक्षित विधि को अभीष्ट उपयोग किया।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

लेक्टोजेनिक विभेदन के दौरान जीन अभिव्यक्ति गतिक विज्ञान :

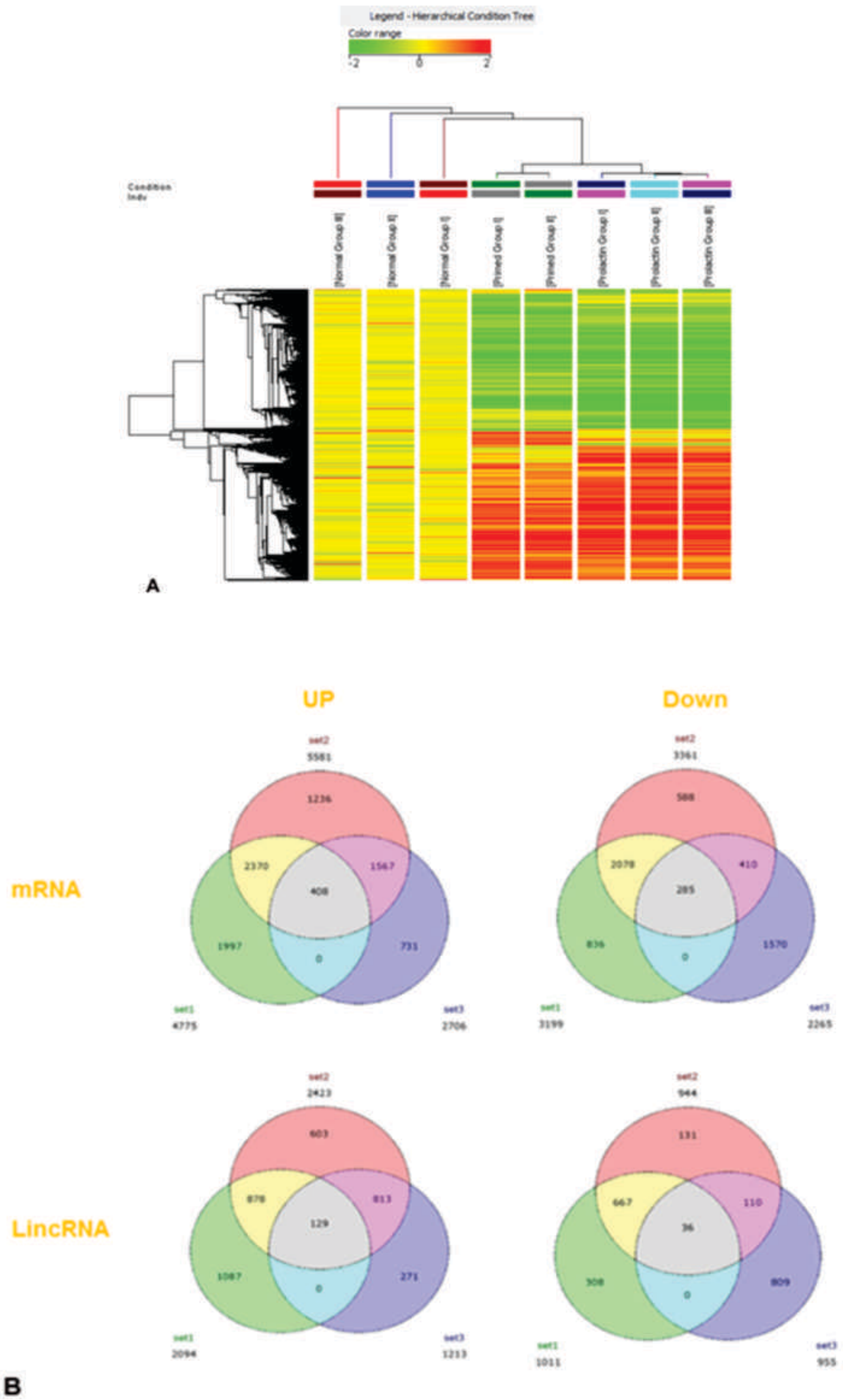
हमने एजीलेंट 8एक्स60के क्रमबद्धता द्वारा सामान्य, ग्लूकोकोर्टिकॉयड – अपघटित और पीआरएल – अपघटित माउस स्तन उपकला कोशिकाओं में वैश्विक जीन अभिव्यक्ति का प्रोफाइल बनाया जिसमें लगभग 30,000 एमआरएनए और 4600 लिंक आरएनए (चित्र 1क) को दर्शाया गया। ऐसा मालूम है कि ग्लूकोकोर्टिकॉयड्स, क्रमशः क्रामेटिन क्षेत्रों से बंधन अथवा प्रोटीन–प्रोटीन अंतःक्रियाओं द्वारा प्रत्यक्ष अथवा अप्रत्यक्ष रूप से ग्लूकोकोर्टिकॉयड रिसेप्टर (जीआर) से बंधन होने पर कोशिका–टाइप विशिष्ट जीन अभिव्यक्ति कार्यक्रम स्थापित करने में महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है। प्रोलेक्टिन को स्टेट 5 अल्फा और स्टेट 5 बीटा के द्वितीयकरण का आसान बनाकर कोशिका–टाइप विशिष्ट जीन अभिव्यक्ति कार्यक्रम स्थापित करने और केंद्रक में इसके स्थानांतरण एवं क्रोमेटिन क्षेत्रों में सीधे बंधन करने पर मल्टीपल जीनों के विनियमन में महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है। हमने विभिन्न जीनों एवं मार्गों (चित्र 1बी, 2ए, बी, सी, डी) की विभेदक अभिव्यक्ति देखी। इनमें से, हम जीन नियामक नेटवर्क स्थापित कर सके जो स्तन उपकला कोशिकाओं में दुग्ध जैस संश्लिष्ट मार्गों को व्यवस्थित किया। इसके अलावा, लिंक आरएनए और एमआरएनए के सह–अभिव्यक्ति विश्लेषण से विशिष्ट एमआरएनए की मौजूदगी अथवा गैर–मौजूदगी के लिए कई लिंक आरएनए के बीच महत्वपूर्ण सह–संबंध का संकेत मिलता है।

लेक्टोजेनिक विभेदन के दौरान लिंक आरएनए और एमआरएनए गतिकी का संयुक्त विश्लेषण :

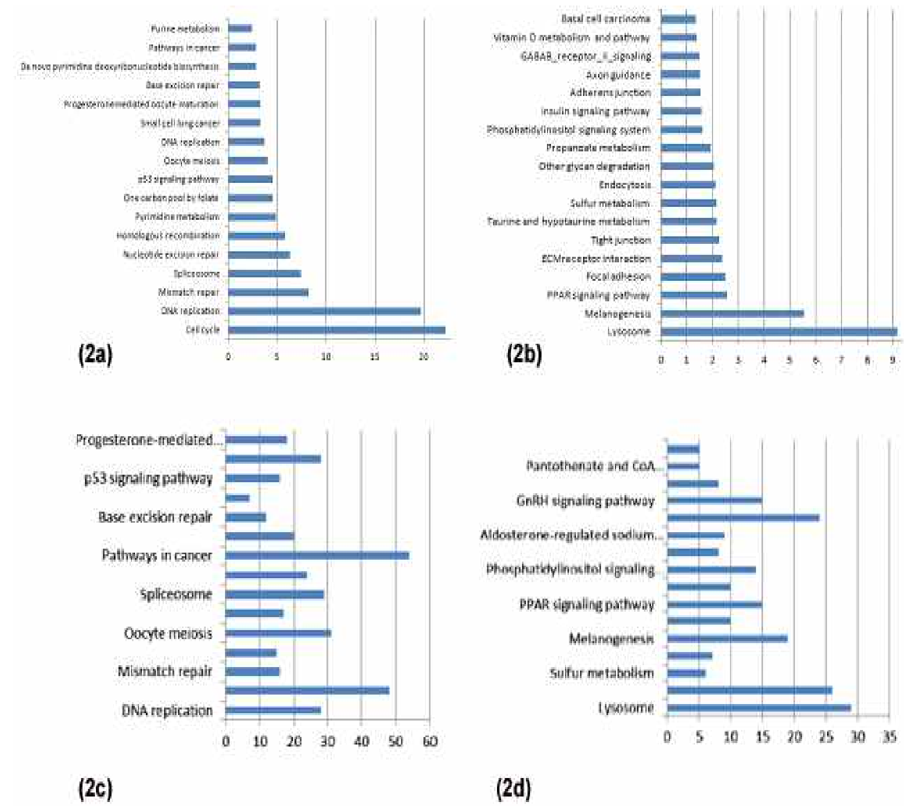
सामान्य, ग्लूकोकोर्टिकोयड – अपघटित और पीआरएल – अपघटित उपकला कोशिकाओं में लिंक आरएनए और एमआरएनए के गतिकी अभिव्यक्ति का प्रोफाइल बनाने से हमें लिंक आरएनए और एमआरएनए की गतिकी अभिव्यक्ति के बीच संबंध को समझने का अवसर मिलता है। सदृश जीनों की अपरेगुलेशन अथवा डाउन– रेगुलेशन में समानताओं के आधार पर कोई भी सह–विनियमन अथवा प्रकार्यात्मक संबंधित लिंक आरएनए और एमआरएनए का अनुमान लगा लेगा। इस उद्देश्य के लिए, हमने अंतर संबंधित लिंक आरएनए और एमआरएनए के बारे में कंप्यूटरीकृत पूर्वकथन करने के लिए सह– अभिव्यक्ति समूहन एलोगरिद्म का उपयोग किया। हमारे विश्लेषण से मल्टीपल एमआरएनए, जो दुग्ध जैव संश्लषण मार्ग में शामिल थे, वाले किसी विशेष लिंक आरएनए की घटनाओं के बीच धनात्मक अथवा ऋणात्मक सहसंबंध, होने का पूर्वकथन करते हैं (चित्र 3)।

षैक्षणिक वर्श 2014–15 के दौरान किए गए कार्य का सारांष

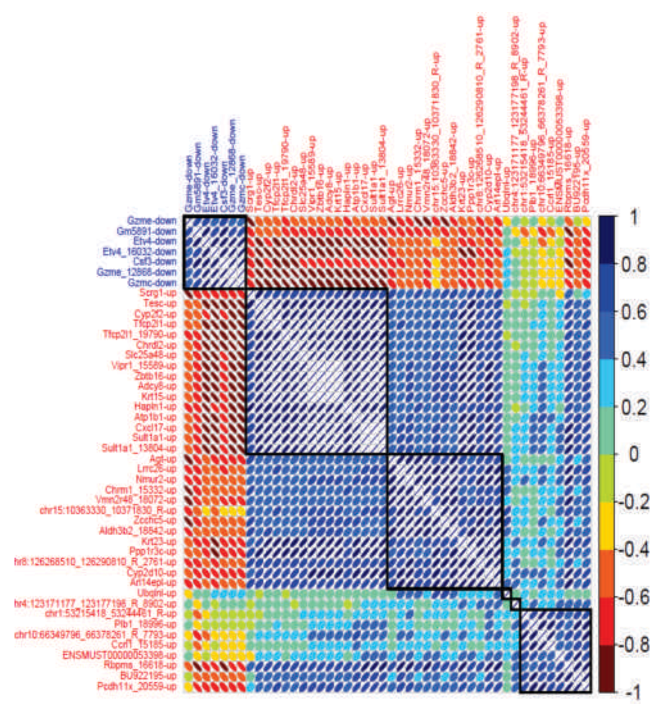
लेक्टोजेनिक हार्मोन संकेतन से मल्टीपल एमआरएनए के सिक्वेंशियल अप अथवा डाउन– रेगुलेशन के साथ–साथ माउस स्तन उपकला स्टेम कोशिकाओं में लिंक आरएनए को बढ़ावा मिलता है। ग्लूकोकोर्टिकोयड संकेतन से उन प्रोटीनों की अभिव्यक्ति बंद होती है जिनसे कोशिका विभाजन और डीएनए प्रतिकृति को बढ़ावा मिलता है जिससे कोशिकीय विभेदन के आरंभिक चरणों के दौरान कोशिका चक्र संरोध की जरूरत का संकेत मिलता है। लेक्टोजेनिक विभेदन के दौरान जीनों के टॉप अप–रेगुलेशन के प्रकार्यात्मक और मार्ग विश्लेषण से लाइसोसोम प्रकार्य, मैलेनिन उत्पत्ति, स्थानिक आसंजन, वायुरोधी जंक्शन, एल्फर चयापचय और एंडोसाइटोसिस का संकेत मिलता है। लेक्टोजेन हार्मोन संकेतन से जीन की अभिव्यक्ति में बढ़ोत्तरी होती है जो संबंधित एकलकी जैसे ग्लूकोज, गैलेक्टोज, वसायुक्त अम्ल, लिपिड में कोबोहाइड्रेट, लिपिड और प्रोटीन ब्रेकडाउन के लिए कोडित हैं जो दुग्ध संघटकों का हिस्सा बन गए हैं। प्रोटीन अंतःक्रिया नेटवर्क के विश्लेषण से लेक्टोजेनिक हार्मोनी संकेतन के चयनात्मक अप अथवा डाउन नियमन सह–प्रक्रियात्मक जीनों का संकेत मिलता है। सह– अभिव्यक्ति समूहन के विश्लेषण से भौतिक अथवा प्रकार्यात्मक अंतर : संबंधित एमआरएनए और लिंक आरएनए का पूर्वकथन मिलता है। तथापि, इन पूर्वकथनों के लिए प्रायोगिक वैधकरण अपेक्षित होता है। जीनोम व्यापी सहसंबंध विश्लेषण से संभवतः लिंग आरएनए के लिए स्वीकृत एमआरएनए की पहचान होती है। वर्तमान में, हम लेक्टोजेनिक विभेदन के दौरान कुछ लिंक आरएनए के प्रकार्यात्मक महत्व की जांच कर रहे हैं।



चित्र 1 : सामान्य, ग्लूकोकोटिकॉयड–अपघटित और पीआरएल अपघटित माउस स्तन उपकला कोशिका स्टेम कोशिकाओं में जीन अभिव्यक्ति का प्रोफाइल बनाना : 1 क. सामान्य, ग्लूकोकोटिकॉयड–अपघटित और पीआरएल अपघटित माउस स्तन उपकला कोशिका में भिन्न प्रकार से अभिव्यक्त क्रमबद्ध व्यवस्थित समूहन विश्लेषण। 1 ख. सामान्य बनाम ग्लूकोकोटिकॉयड – अपघटित (सैट 1), सामान्य बनान पीआरएल–अपघटित (सैट 2) और ग्लूकोकोटिकॉयड बनाम पीआरएल – अपघटित (सैट 3) के बीच भिन्न प्रकार से अभिव्यक्ति जीनों की संख्या को दर्शानेवाला पाई चार्ट।



चित्र 2. डीएवीआईडी डेटा बेस का उपयोग करते हुए माउस स्तन उपकला स्टेम कोशिकाओं में ग्लूकोकार्टिकॉयड और पीआरएल संकेतन पर टॉप अप–अथवा डाउन–रेगुलेटेड जीनों का प्रकार्यात्मक और मार्ग विश्लेषण : (क) टॉप अप रेगुलेटेड जीनों के लिए और (ख) ग्लूकोकार्टिकॉयड संकेतन पर टॉप अप रेगुलेटेड जीन; (ग) डाउन रेगुलेटेड जीनों के लिए और (घ) पीआरएल संकेतन पर टॉप अप रेगुलेटेड जीन।



चित्र 3. लेक्टोजेनिक विभेदन के दौरान लिंक आरएनए और एमआरएनए के एकीकृत सह–अभिव्यक्ति समूहन विश्लेषण से स्वीकृत अंतर संबंधित एमआरएनए और लिंक आरएनए की पहचान होती है : टॉप अप– रेगुलेटेड जीनों के लिए सहसंबंध गुणांक का ताप मानचित्र (जीआर संकेतन से पूर्व अथवा पश्चात, गुणा परिवर्तन झ ~ + - 6.2 अथवा ~ + +6.2)। एलीप्स में विकृति, सहसंबंध के महत्व से सीधी आनुपातिक संबंधित है। नीले रंग के वर्गाकार बॉक्स उच्च सह–अभिव्यक्त समूहन को दर्शाते हैं। यदि लिंक आरएनए, वर्गाकार बॉक्सों में अन्य जीनों के साथ एकत्र हैं, बहुत संभव है कि इनका सकारात्मक नियमन हो।

बूबेलाइन मेस्टाइटिस (स्तन की सूजन) में जीवाणु रोगजनकों और साइटोकाइनेस मध्यस्थता स्तन संबंधी ऊतकों के नुकसान का एंटीबायोटिक प्रतिरोध : नियंत्रण में पॉलीफीनॉल्स और एनएसएआईडी की भूमिका

पशु चिकित्सा सूक्ष्म जीव विज्ञान विभाग, एनटीआर कॉलेज ऑफ वेटेनरी साइंस, श्री वेंकटेश्वर वेटेनरी यूनिवर्सिटी, गन्नावरम (एपी) और पशु जीवविज्ञान विभाग, स्कूल ऑफ लाइफ साइंस, हैदराबाद विश्वविद्यालय, हैदराबाद

प्रधान अन्वेषक :	पी. आनंद कुमार	प्रोफेसर, एसवीवीयू
सह–प्रधान अन्वेषक 1 :	जी. श्रीनिवास राव	प्रोफेसर, एसवीवीयू
सह–प्रधान अन्वेषक 2 :	एम. के. अरुणाश्री	सहायक प्रोफेसर, एचसीयू
एमवीएससी छात्र	जी. राम बाबू	अनुसंधान छात्र, एसवीवीयू
	एस. एस. बी. रामाराजु	अनुसंधान छात्र, एसवीवीयू
पीएच.डी छात्र	जी. मोहन शीला	वरिष्ठ अनुसंधान अध्येता, एसवीवीयू
	डी. शानमुखा कुमार	सीएसआईआर–एसआरएफ, एचसीयू
	वाय. एन. गजापति वर्मा	यूजीसी–एसआरएफ, एचसीयू
	ए. माधवी	सीएसआईआर परियोजना एसआरएफ
	जी. वनजा	आरजीएनएफ–जेआरएफ, एचसीयू
	के. गीता वाणी	डीबीटी–जेआरएफ, एचसीयू
सहयोगकर्ता	गिरीश के. राधाकृष्णन	वैज्ञानिक डी, एनआईएबी

उद्देश्य

ब्यूबेलाइन मेस्टाइटिस आम तौर पर बैक्टीरिया संक्रमण से होता है जो डेयरी पशुओं में दूध उत्पादन पर अपने प्रतिकूल प्रभाव के कारण भारतीय डेयरी उद्योग को भारी आर्थिक हानि पहुंचाने के लिए जिम्मेदार है। बैक्टीरिया कारकों के अलावा, मेस्टाइटिस में स्तन ग्रंथि ऊतकों को नुकसान पहुंचाने के लिए जिम्मेदार भेदक बैक्टीरिया को मेजबान प्रतिरक्षी प्रतिक्रिया के दौरान प्रज्जवलनकारी साइटोकाइन उत्पन्न होते हैं। क्षेत्र स्तर पर मेस्टाइटिस के उपचार के लिए एंटीबायोटिक के अंधाधुंध उपयोग चिंता का कारण हैं, क्योंकि इससे एंटीबायोटिक प्रतिरोधकता का विकास हो सकता है। एंटीबायोटिक से उपचारित पशुओं से मिलने वाले दूध को इसमें मौजूद एंटीबायोटिक अवशेशों के कारण हटा दिया जाएगा। मेस्टाइटिस के इलाज के लिए कोर्टिसोन देने से कोर्टिसॉन उद्दीपित प्रतिरक्षा संदमन का जोखिम होता है। चिकित्सीय सूत्रण की तत्काल आवश्यकता है जिसमें बैक्टीरियारोधी, प्रज्जवलनरोधी और इम्युनो मॉड्यूलेटरी गतिविधियां होती हैं, अनचाहे प्रभाव नहीं होते, ताकि भैंसों और गायों में मेस्टाइटिस का नियंत्रण किया जा सके। इस परियोजना का लक्ष्य इन मुद्दों का संबोधन करना है और इस परियोजना के उद्देश्य निम्नानुसार है :

1. स्तनशोथ रोगकारकों अंत पात्रे के संबंध में पोलीफिनोलिक सम्मिश्रों (एंटीबॉयोटिक्स की कम खुराक के साथ, एकल अथवा कॉकटेल में अथवा संयुक्त रूप में) की जीवाणु प्रतिरोध क्रियाविधि का मूल्यांकन करना।
2. एनएसएआईडी अंत पात्रे के संयोजन में एंटीबॉयोटिक्स के प्रति स्तनशोथ रोगकारकों की संवेदनशीलता का अध्ययन करना।
3. एस. ऑरियस और ई. कोलाई से संक्रमित अंत पात्रे के दौरान बुबेलाइन स्तनपायी उपकला कोशिकाओं में विभिन्न शोथज और प्रतिरक्षा नियामक साइटोकाइन्स की अभिव्यक्ति के स्तरों का विश्लेषण करना।
4. बुबेलाइन स्तनपायी उपकला कोशिकाओं में शोथज और प्रतिरक्षा नियामक साइटोकाइन्स के स्तरों के नियमन में पोलीफिनोलिक सम्मिश्रों की क्रियाविधि की जांच करना।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (31 मार्च, 2014 तक)

एसवीवीयू, गन्नावरम में :

ई. कोलाई को भैसों के कतिपय स्तनशोथ दुग्ध नमूनों से आइसोलेटेड किया गया था। परंपरागत संवर्धन और जैव–रासायनिक परीक्षणों द्वारा ई. कोलाई आइसोलेट्स की अनंतिम रूप से पुश्टि की गई, इसके बाद ई. कोलाई विशिष्ट ओलिगोन्यूक्लिओटाइड प्राइमरों के प्रयोग से पीसीआर द्वारा और अधिक पुष्टि की गई। ई. कोलाई आइसोलेट्स में एंटीबॉयोटिक्स प्रतिरोध पैटर्न से

एंटीबायोटिक संवेदनशीलता परीक्षण (एबीएसटी) में एंटीबायोटिक एनरॉफलोक्सेसिन के प्रति अलग–अलग तीव्रता की संवेदनशीलता का पता चला। जबकि ई. कोलाई आइसोलेट्स अंत पात्रे न्यूनतम अवरोधक सांद्रण (एमआईसी) आमापनों में एमोक्सिसीलिन और सेट्रियाक्सॉन के प्रति प्रतिरोधक पाई गई, पोलीफेनॉल सिनामिक एसिड ने आधे आइसोलेट्स के लिए 1.25 मि. ग्रा. / मि. ली. पर जीवाणुरोधी क्रियाविधि का अवरोध किया और बाकी आइसोलेट्स के लिए इसकी जीवाणुरोध क्रियाविधि 2.5 मि. ग्रा. / मि. ली. पर थी। अधिकांश ई. कोलाई आइसोलेट्स (75 प्रतिशत) के लिए, क्विरसिटिन ने 2.5 मि. ग्रा. / मि. ली. पर और गैलिक एसिड ने 5 मि. ग्रा. / मि. ली. पर जीवाणु प्रतिरोधी क्रियाविधि का प्रदर्शन किया। अन्य पॉलीफिनोल्स और पारंपरिक एंटीबॉयोटिक्स के संयोजन में जीवाणु प्रतिरोधी क्रियाविधि के लिए सिनामिक एसिड का और अधिक अध्ययन किया जाना है।

एस. ऑरियस से इतर स्टेफिलोकॉकस प्रजातियों को अधिकांश दुग्ध नमूनों से अलग किया गया था। यह देखना दिलचस्प है कि पांच आइसोलेट्स जीडीवी5, जीवी 7, केएसपी 14, केएसपी 15 और केएसपी 16 बुबेलाइन स्तनशोथ के मामलों से एस. ऑरियस के कोऑगुलेज ऋणात्मक रूपांतर हैं। जिन आइसोलेट्स की पीसीआर परीक्षण में एस. ऑरियस के रूप में पुष्टि की गई वे पीसीआर परीक्षण में ब्लाज जीन के लिए विशिष्ट ओलिगोन्यूक्लिओटाइड के साथ प्रतिक्रियाशील थे। स्टार्च–आयोडीन ऑगर परीक्षण द्वारा एस. ऑरियस आइसोलेट्स के बीटा लेक्टोमेज के उत्पादन का पता लगाया गया था।

एचसीयू, हैदराबाद में :

प्राकृत अपघटय के साथ इनोसाइन–5'– मोनोफॉसफेट डिहाइड्रोजिनेज (आईएमपीडीए) क्रियाविधि के आरंभिक अध्ययन से, जहां एनएडीएच के निर्माण का मापन किया गया, सेलेकॉक्सिब की मौजूदगी में एनएडीएच के निर्माण में कमी दिखाई दी किंतु सेलेकॉक्सिब ने विभिन्न सांद्रणों पर शुद्ध प्रोटीन के साथ आईएमपीडीएच क्रियाविधि के किसी अवरोधन का प्रदर्शन नहीं किया। यह स्पष्ट तौर पर दिखाया गया है कि सेलेकॉक्सिब, अन्य एंजाइमों/प्रतिक्रियाओं के अवरोधन में शामिल हो सकती हैं जिनमें एनएडी, सह– कारक के तौर पर उपयोग किया जाता है। चूंकि, आईएमपीडीएच क्रियाविधि का कोई अवरोधन नहीं होता, हम पेटेंट भरने के लिए और आगे अग्रसर नहीं हुए।

जीन स्तर पर बीटा लेक्टोमेज को डाउन रेगुलेट किया गया और सेलेकॉक्सिब एवं एंपिसिलीन के संयोजन में इसकी क्रियाविधि का भी दमन किया गया। लेकिन, सेलेकॉक्सिब से उपचारित नमूनों में उच्च क्रियाविधि के कारण स्पष्ट नहीं थे। केवल एंटीबायोटिक्स अथवा संयोजन की मौजूदगी गैर–मौजूदगी में एमएसएसए और एमआरएसए वृद्धि गतिकी का अध्ययन किया गया, जिसमें संयोजन उपचार में विलंबित मंद काल दिखाई दिया। मैथिसिलिन और सेलेकॉक्सिब का उपयोग करते हुए संयोजन दक्षता के लिए एस. ऑरियस के बारह आइसोलेट्स का परीक्षण किया गया। इन आइसोलेट्स में संयोजन में स्पष्ट तौर पर उच्चतर अवरोधन दिखाई दिया है जब उन्हें अकेले प्रयोग किया गया। तकरीबन 66 प्रतिशत उपभेद मेकसी पॉजिटिव थे जिनसे बुबेलाइन स्तनशोथ में एमआरएसए की उच्चतर व्याप्ति का संकेत मिलता है।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

एसवीवीयू, गन्नावरम में :

बुबेलाइन स्तनशोथ के क्लीनिकल मामलों से एस. ऑरियस के कुल 39 आइसोलेट्स को पृथक किया गया था। इन सभी आइसोलटस की पारंपरिक और जैव रासायनिक परीक्षणों से अनंतिम तौर पर पुष्टि की गई, इसके बाद पीसीआर परीक्षण द्वारा और अधिक पुष्टि की गई। इन आइसोलेट्स में से, कुल 24 एस. ऑरियस आइसोलेट्स, विशिष्ट ओलिगोन्यूक्लिओटाइड वाले पीसीआर में बीएलएजेड जीन के लिए पॉजिटिव पाए गए जिससे बीटा – लेक्टोमेज के उत्पादन का संकेत मिलता है जिससे बीटा–लेक्टोमेज के प्रति प्रतिरोध का अंदाजा लगता है। स्टार्च – आयोडीन ऑगर परीक्षण द्वारा एस. ऑरियस आइसोलेट्स के बीटा–लेक्टोमेज उत्पादन का पता चला। एस. ऑरियस के सत्रह आइसोलेट्स, विशिश्ट ऑलिगोन्यूक्लि ओटाइड्स के साथ पीसीआर में एमईसीए जीन के लिए पॉजिटिव पाए गए थे जिससे मैथिसिलिन के प्रति उनके प्रतिरोध का संकेत मिलता है (चित्र 1)। तथापि, एस. ऑरियस के 15आइसोलेट्स, बीएलएजेड और एमईसीए जीन, दोनों के प्रति पॉजिटिव थे। दो आइसोलेट्स टीवीसीसी 44 और जीवी 32 को छोड़कर, एस. ऑरियस के सभी अन्य आइसोलेट्स जो एमईसीए जीन के लिए पॉजिटिव थे, वे बीएलएजेड जीन के लिए भी पॉजिटिव थे। एस. ऑरियस के दस आइसोलेट्स पेंटीन वेलेंटाइन ल्यूकोसाईडिन (पीवीएल) जीन पीवीएल के लिए पॉजिटिव थे (चित्र 1)। बुबेलाइन स्तनशोथ के मामलों से एस. ऑरियस में पीवी 1 जीन का पता लगाना महत्वपूर्ण हो जाता है क्योंकि एस. ऑरियस के वे आइसोलेट्स, जिन्होंने पीवी1 विश उत्पन्न किया था, का उस बस्ती में समुदाय के संबंध में महत्व होता है।

फिनोटिपिक अध्ययनों द्वाराएस. ऑरियस आइसोलेट्स में बायोफिल्म निर्माण का मूल्यांकन किया गया जैसे माइक्रोटिटर प्लेट आमापन और आशोशित कांगों रैड ऑगर। आईसीएए और आईसीएडी जीनों के लिए विशिष्ट ओलिगोन्यूक्लिओटाईड प्राइमर्स के साथ

प्रतिक्रिया द्वारा पीसीआर में एस. ऑरियस आइसोलेट्स में बायोफिल्म के उत्पादन के आनुवंशिक निर्धारकों का पता लगाया गया था। आईसीएए जीन के लिए, कुछ एस. ऑरियस आइसोलेट्स में 188 बीपीके विशिश्ट पीसीआर उत्पाद दिखाई दिए थे। आईसीएडी जीन के लिए, कुछ एस. ऑरियस आइसोलेट्स में 198 बीपीके विशिष्ट पीसीआर उत्पाद दिखाई दिए थे (चित्र 2)। यह देखना दिलचस्प है कि जो एस. ऑरियस आइसोलेट्स पीवीआई जीन के लिए पॉजिटिव हैं, को क्लीनिकल स्तनशोथ के उन मामलों से पृथक किया गया था जिनमें कैलिफोर्निया स्तनशोथ परीक्षा (सीएमटी) में 2 या 3 का मान दिखाई दिया। बायोफिल्म का उत्पादन करने वाले एस. ऑरियस आइसोलेट्स और एंटीबॉयोटिक प्रतिरोध पैटर्न के बीच भी मजबूत सह–संबंध है। परंपरागत एंटीबॉयोटिक्स और पोलीफिनोल्स क्वेरसिटिन के साथ एमआईसी आमापनों में क्लीनिकल और प्रयोगशाला संस्थान (सीएलएसआई) दिशा–निर्देश, 2012 के अनुसारांश सिनामि अम्ल और गैलिक एसिड बने थे। अधिकांश एस. ऑरियस आइसोलेट्स बीटा–लेक्टम एंटीबॉयोटिक्स के प्रति प्रतिरोधक पाए गए थे। पोलीफिनॉल्स और क्वेरसिटिन एवं गैलिक एसिड के एस. ऑरियस आइसोलेट्स के प्रति संवेदनशीलता से सदृश रूझान दिखाई दिए जैसी पूर्व आइसोलेट्स के साथ रिपोर्ट थी।

एनडीआरआई, करनाल से अर्जित बुलेलिन स्तनपायी उपकला कोशिका लाइन (बीयूएमईसी) का प्रवर्धन किया गया है। मवेशी भैंसों से दूध निकालने के दौरान एसेप्लीकली एकत्र ताजा दूध एकत्र किया गया और स्तनपायी उपकला कोशिकाओं के आइसोलेट्स के लिए इसका प्रक्रमण किया गया। आरपीएमआई माध्यम में स्तनपायी उपकला कोशिकाओं का प्रवर्धन किया गया था। तथापि, कोशिकाओं के प्रवर्धन के लिए दशाओं के लिए कतिपय आशोधन करने की जरूरत है जिससे स्वस्थ स्तनपायी उपकला कोशिकाएं मिले जिन्हें संक्रमण अध्ययनों में उपयोग किया जा सकता है। सह–संवर्धन अध्ययनों में कतिपय तकनीकी बाध्यताओं के कारण अनुसूची के पीछे जीवाणु रोगकारकों के साथ सह–सवंर्धित बीयूएमईसी द्वारा संक्रमण अध्ययनों से संबंधित प्रगति है। वर्तमान अध्ययन में, एस. ऑरियस और ई. कोलाई के से संक्रमण के दौरान बीयूएमईसी में विभिन्न साईटोकाइन्स की अभिव्यक्ति के स्तरों का मूल्यांकन किया जा रहा है।

एचसीयू, हैदराबाद में :

एम्पीसिलिन और सेलेकॉक्सिब को– क्रिस्टल विकास :

सह– चर्वण के लिए एम्पीसिलिन और सेलेकॉक्सिब के विभिन्न अनुपातों का उपयोग किया गया और बने को–क्रिस्टल को उनके अनुपातों के अनुसारांश नाम दिया गया था। पाउडर एक्स–रे विवर्तन के द्वारा इन को–क्रिस्टलों का विश्लेषण किया गया और विभेदन स्कैनिंग कैलोरी मीटर के द्वारा इनके स्थायीत्व का परीक्षण किया गया था। परिणामों से संकेत मिलता है कि हो सकता है कि कमजोर इलेक्ट्रोस्टेटिक अंतक्रियाओं अथवा वैन डा वाल्स बलों अथवा हाइड्रोजन बंधन द्वारा एम्पीसिलिन और सेलेकॉक्सिब एक–दूसरे से अंतक्रिया करते हों, जिससे एम्पीसिलिन के जीवनकाल में आधी वृद्धि हो सकती है अथवा इसके कारण एम्पीसिलिन और सेलेकॉक्सिब, बीटा–लेक्टम द्वारा तत्काल विदलित न हो और इस कारण, जीवाणु पर अपनी क्रियाविधि को प्रभावपूर्ण तरीके से दर्शाता है (चित्र 3)।

फ्लोरोसेंस स्ट्रेस्कोपी द्वारा एम्पीसिलिन–सेलेकॉक्सिब अंतक्रिया :

मिथेनॉल में एम्पीसिलिन–सेलेकॉक्सिब के क्रियाशील सांद्रण तैयार किए गए थे और उनकी अधिकतम उत्तेजन और उत्सर्जन का निर्धारण किया गया। यह देखा गया कि सेलेकॉक्सिब के उच्चतम उत्सर्जन में कोई अंतर नहीं है (चित्र 4 क) लेकिन एम्पीसिलिन के लिए, संयोजन के मामले में उच्चतम ऊचाई बढ़ गई थी (चित्र 4 ख)। इससे संकेत मिलता है कि जब एम्पीसिलिन और सेलेकॉक्सिब विलयनों को मिलाया जाता है, उनके बीच कमजोर अंतक्रिया दिखाई देती है और कि इलेक्ट्रॉन क्लाउड, जो अंतःक्रिया में मददगार होता है, से फ्लोरोसेंस शीर्ष में बढ़ोत्तरी होती है।

सीएफयू की गणना से दवाइयों की मौजूदगी में एमएसएसए वृद्धि की निगरानी :

पूर्व में प्रकाश का मापन कर एमएसएसए की वृद्धि देखी गई थी। चूंकि इस विधि द्वारा जीवित एवं मृत जीवाणु में अंतर नहीं किया जा सकता, हमने दवाइयों की मौजूदगी में जीवाणुओं की वृद्धि देखते हुए, पाउर प्लेट विधि द्वारा नमूनों के कॉलोनी निर्माण इकाइयों (सीएफयू) की गणना की। दवाइयों के संयोजन की मौजूदगी में जीवाणुओं की वृद्धि में काफी अवरोधन हुआ।

स्तनशोथ के एस. ऑरियस पर एम्पीसिलिन और सेलेकोक्सिब के संयोजन का प्रभाव :

एमआईसी मानों के आधार पर, एस. ऑरियस आइसोलेट्स को तीन समूहों, नामतः उच्च प्रतिरोध, मध्यम प्रतिरोध और संवेदनशील में वर्गीकृत किया गया था। बैक्टीरियल घोस्ट्स तैयार किया गए और दवा/एंटीबायोटिक के साथ ऊष्मायन के बाद सेलेकोक्सिब और एम्पीसिलिन के प्रवेश का प्रेक्षण किया गया। यह स्पष्ट रूप से देखा गया कि सेलेकोक्सिब की मौजूदगी में घोस्ट

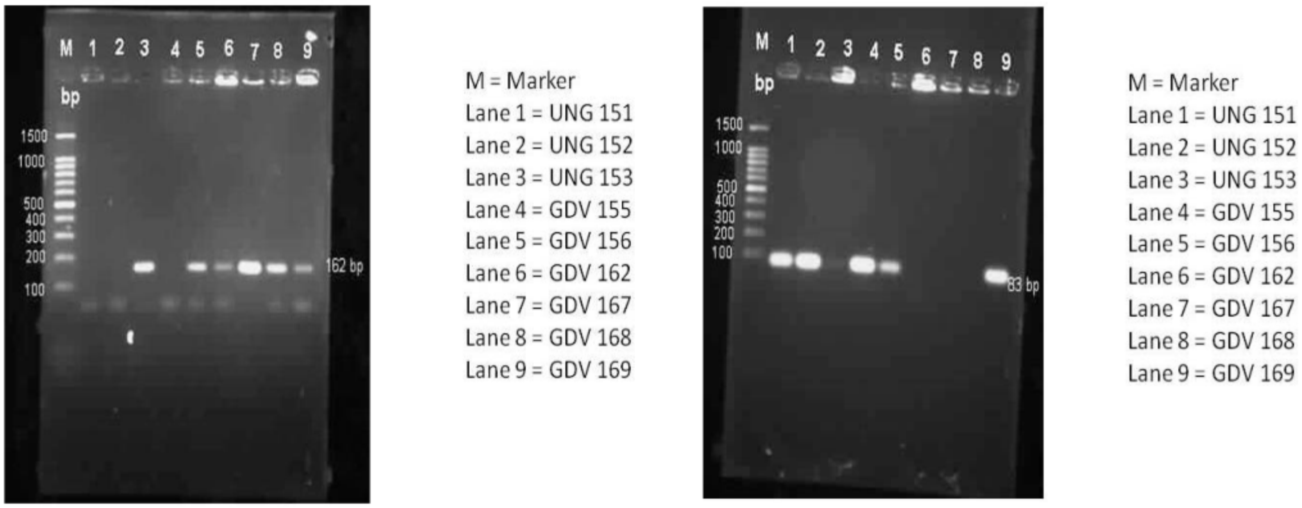
झिल्लियों के भीतर एम्पीसिलिन के अवशोषण में वृद्धि थी जिससे संकेत मिलता है कि संभव है कि जीवाणुओं को सेलेकोक्सिब में प्रवेश में सुविधा होती हो और इससे एंटीबॉयोटिक की कुशलता में वृद्धि होती है।

मेंबरेन पोटेंशियल (एमपी) ऐसा तंत्र है जिसके द्वारा जीवाणु प्रतिरोध हासिल करता है। अतः संयोजन में सेलेकॉक्सिब के तंत्र को समझने के लिए, हमने रहोडमाइन 123 के उपयोग से फ्लोसाइटोमीटर द्वारा एमपी का विश्लेषण किया है। सेलेकॉक्सिब के उपचार में एमआरएसए में एमपी में कोई परिवर्तन नहीं हुआ और यह अनुपचारित नियंत्रण कोशिकाओं के सदृश था। लेकिन, एम्पीसिलिन के उपचार में इसमें कमी आई थी (चित्र 5 ख) जिससे संकेत मिलता है कि संभवतः एमपी में घटोत्तरी के जरिए एमआरएसए, एम्पीसिलिन के प्रति प्रतिरोध हासिल करता है। हालांकि, संयोजन में उपचार में, मेंबरेन पोटेंशिय, लगभग सामान्य तक हासिल हो गया था। एमएसएसए के मामले में, उपचार की सभी दशाओं में खास अंतर नहीं था। डीआईओसी$_2$ से एमपी का भी मापन किया गया था।

सारांश

इस रिपोर्ट अवधि के दौरान बुबेलाइन स्तनशोथ के क्लीनिकल मामलों से एस. ऑरियश के कुल 39 आइसोलेट्स पृथक किए गए थे। एंटीबॉयोटिक प्रतिरोध (बीएलएजेड और एमईसीए), बॉयोफिल्म उत्पादन (आईसीएए और आईसीएडी) और साथ ही, डिस्क विवर्तन एवं एमआईसी आमापनों द्वारा एंटीबॉयोटिक संवेदनशीलता पैटर्न के लिए आनुवंशिकी निर्धारकों हेतु परीक्षण किया गया था। बीटा–लेक्टम एंटीबॉयोटिक्स के खिलाफ एस. ऑरियस आइसोलेट्स में काफी अधिक व्यापक प्रतिरोध व्याप्त है। पोलीफिनोल्स, क्वेरसिटिन, सिनामिक एसिड और गैलिक एसिड ने एस. ऑरियस और ई. कोलाई के खिलाफ अंतः पात्रे अच्छा खासा जीवाणु प्रतिरोध दिखाया। एस. ऑरियस और ई. कोलाई के सह–संवर्धन अध्ययनों के लिए स्तनपायी उपकला कोशिकाओं (बीयूएमईसी) का प्रवर्धन किया गया था। संक्रमण के दौरान स्तनपायी उपकला कोशिकाओं में विभिन्न साइटोकिन्स के अभिव्यक्ति के स्तरों के मूल्यांकन का कार्य किया जा रहा है।

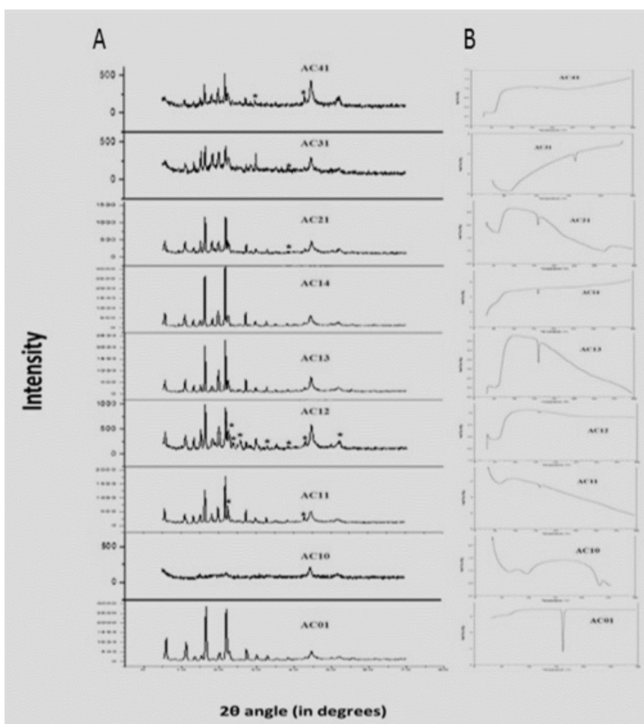
एम्पियिलिन – सेलेकॉक्सिब को–क्रिस्टल तैयार किए गए थे और अध्ययन दर्शाते हैं कि दो दवाइयों की उनके बीच कमजोर अंतः क्रियाएं हैं। सीएफयू विधि द्वारा जीवाणुओं की वृद्धि की निगरानी से स्पष्ट संकेत मिलता है कि यह संयोजन अलग–अलग दवाईयों की अपेक्षा जीवाणुओं की वृद्धि के अवरोधन में अधिक प्रभावी है। संयोजन की कुशलता के लिए स्तनशोथ से एस. ऑरियस के पच्चीस आइसोलेट्स की जांच की गई थी। यह स्पष्ट तौर पर देखा गया कि अलग–अलग दवाईयों की अपेक्षा एम्पियिलिन और सेलेकॉक्सिब का संयोजन अधिक प्रभावी है और काफी अधिक निम्न एमआईसी मानों पर यह उच्च प्रतिरोधी जीवाणु से लेकर संवेदनशील जीवाणों के लिए कारगर था। घोस्ट जीवाणु झिल्लियों के भीतर अधिक एम्पीसिलिन अवशोषण से संकेत मिलता है कि संभवत जीवाणुओं में एम्पीसिलिन के प्रवेश में सेलेकॉक्सिब मददगार होता है। केवल एम्पीसिलिन की मौजूदगी में एसआरएसए का कम एमपी, एम्पीसिलिन और सेलेकॉक्सि के संयोजन में वापस सामान्य आ गया था। सेलोक्सिब के भाग्य और संयोजन उपचार में जीवाणुओं के चयापचय में परिवर्तनों को समझने के लिए, चयापचय परीक्षण किया गया था। तथापि, आंकडों का विश्लेषण लंबित है।



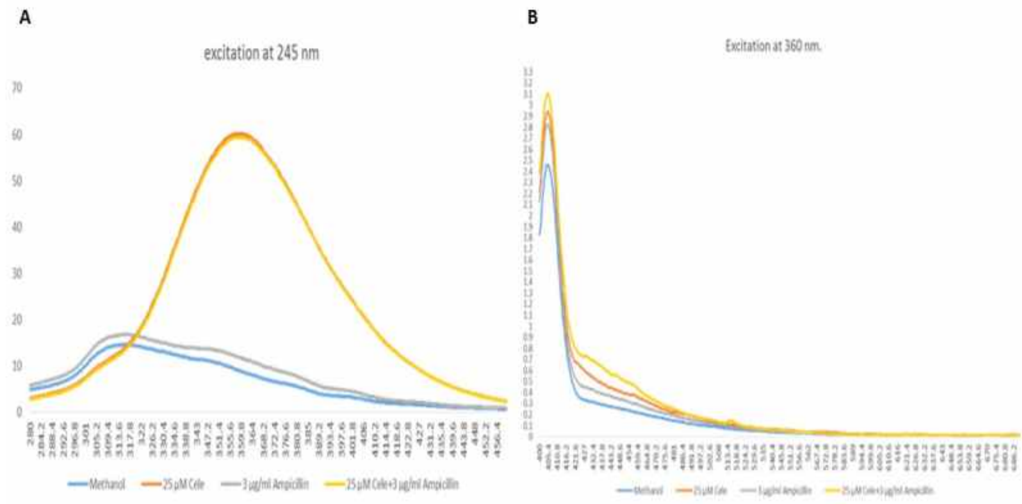
चित्र 1. बुबेलाइन स्तनशोथ के एस. ऑरियस आइसोलेट्स के एमईसीए और पीवीएल जीनों का पता लगाना।

M = Marker
Lane 1 = GDV 166
Lane 2 = UNG 155
Lane 3 = GDV 170
Lane 4 = GDV 171
Lane 5 = GDV 151
Lane 6 = GDV 152
Lane 7 = GDV 157
Lane 8 = GDV 158
Lane 9 = GDV 159

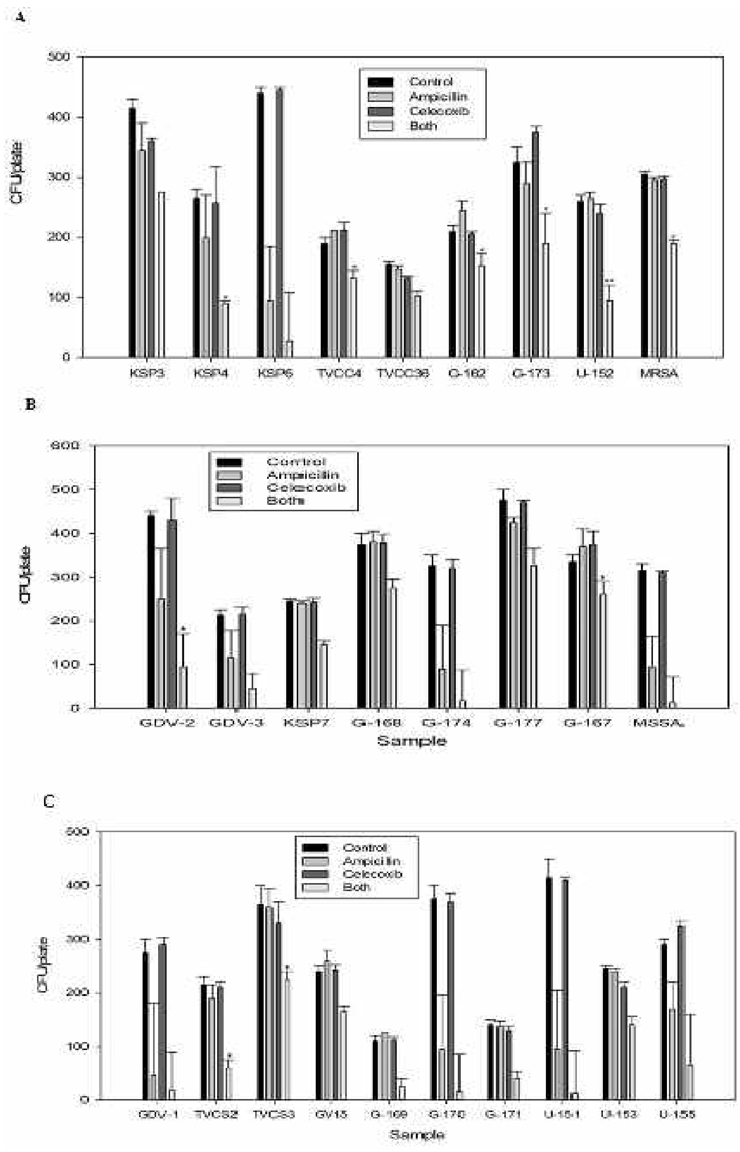
चित्र 2. बुबेलाइन स्तनशोथ के एस. ऑरियस आइसोलेट्स में आईसीएडी जीन का पता लगाना।



चित्र 3. को– क्रिस्टल्स के .(क) .पाउडर एक्सआरडी शीर्षों और (ख) डीएससी वक्रों को दर्शाने वाला चित्र।



चित्र 4. सेलेकॉक्सिब और एम्पीसिलिन और उनके संयोजन द्वारा (क) 245 एनएम उत्तेजन और (ख) 360 ए एनएम उत्तेजन पर फ्लोरोसेंस का उत्सर्जन दर्शाने वाला चित्र।



चित्र 5. दवा की विभिन्न दशाओं में विभिन्न एस. ऑरियस आइसोलेट्स और सीएफयू के बीच बनाया गया बार– ग्राफ दर्शाने वाला चित्र। (क) उच्च प्रतिरोध (ख) मध्यम प्रतिरोध और (ग) संवेदी जीवाणु उपभेद पर एम्पीसिलिन + सेलेकॉक्सिब संयोन का प्रभाव। 'केवल एम्पीसिलिन के साथ तुलना करने पर संयोजन (दोनों) में पर्याप्त वृद्धि।

भारतीय कुक्कुट में टोल लाइक रिसेप्टर – 4 (टीएलआर–4) संकेतक मध्यस्थता जीवाणु रोग प्रतिरोधकता की भूमिका की जांच

जैव रसायन विभाग, स्कूल ऑफ लाइफ साइंस, हैदराबाद विष्वविद्यालय

और कुक्कुट अनुसंधान निदेशालय, हैदराबाद

प्रधान अन्वेषक :	जी रवि कुमार	सहायक प्रोफेसर
पीएच. डी छात्र :	रविन्द्र कंडी	वरिष्ठ अनुसंधान अध्येता
	राम बाबू उन्डी	वरिष्ठ अनुसंधान अध्येता
	इतिश्री साहू	वरिष्ठ अनुसंधान अध्येता
	संजीव रघुवंशी	कनिष्ठ अनुसंधान अध्येता
	के. नरसिंह	कनिष्ठ अनुसंधान अध्येता
अन्य सदस्य :	एस. पी. वेंकट सुब्बैया	परियोजना सहायक
	पी. उमा	परियोजना सहायक
	शिल्पा सर्वोत्तम	परियोजना सहायक
	पी. सत्या रतन	परियोजना छात्र
	के. हनुमंत कुमार	अनुसंधान एसोसिएट
सहयोगकर्ता :	माधुरी सुब्बैया	एनआईएबी
	टी. आर. काण्णकी	पीडीपी

उद्देश्य :

टोल–लाइक रिसेप्टर (टीएलआर) सक्रियण प्रतिरक्षा प्रतिक्रिया के दोनों पहलुओं, प्राकृत और अनुकूली, दोनों को संबोधित और पुनः प्रवर्तित करता है जिससे रोगकारकों के खिलाफ विशिष्ट प्रतिक्रिया प्रेरित होती है। इस अध्ययन में, गैर–विशिष्ट प्रतिरक्षा तंत्र का अध्ययन किया जाएगा क्योंकि इनमें ऐसे प्राकृत अथवा अंतनिर्हित उपाय शामिल हैं जिनमें चूजे रोग का प्रतिरोध करते हैं। कुक्कुट स्वास्थ्य कार्यक्रम बनाते समय अक्सर इस सुरक्षा प्रणाली पर विचार नहीं किया जाता। कई कार्यक्रमों में चूजों के स्वास्थ्य को बरकरार रखने के लिए मुख्यतः टीकों और/अथवा एंटीबॉयोटिक्स पर निर्भर रहने की प्रवृत्ति है। आनुवंशिक स्टॉक के आधार को संकीर्ण करने से नई बीमारियों के प्रति शेष स्टॉक की संवेदनशीलता हो सकती है जिससे आनुवंशिक एकरूपी आबादी नष्ट हो सकती है। गैर – विशिष्ट प्रतिरक्षी तंत्र के महत्व को समझा जाना चाहिए। इस समझ से, हमारा उद्देश्य टीएलआर 4–एमवायडी88 (माइलॉयड विभेदन प्रमुख प्रतिक्रिया जीन 88) आश्रित और स्वतंत्र मार्गों के प्रकार्यों को अलग करना है जो कुक्कुट प्रतिरक्षा कोशिकाएं, विशिष्ट संकेतन मार्गों में सक्रिय करती हैं।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष के आरंभ में किए गए कार्य सारांश (31 मार्च, 2014 तक)

हमने एलपीएस से उपचार करने के बार ब्रॉइलर (कॉब), एसेल, दारहलम रैड और घागुस की चूजों की नस्लों के पीबीएमसी में टीएलआर–4 मार्ग विनियमित जीन अभिव्यक्ति की पहचान की है। टीएलआर–2 से भिन्न जीन एमवायडी88–आश्रित और एमवायडी88–स्वतंत्र मार्गों को प्रेरित करते हैं। ये टीएलआर 4, एमवायडी88, टीएनएफ रिसेप्टर संबद्ध कारक 6 (टीआरएएफ6), टीआईआर डोमेन निहित अडेप्टर प्रेरक इंटरफेरॉन बीटा (टीआरआईएफ), अनुलेखन कारक नाभिकीय कारक कप्पा बी (एनएफकेबी), इनफेरॉन नियामक कारक 7 (आईआरएफ 7) और इनफेरॉन बीटा (आईएफएन बीटा) हैं।

अपने अध्ययन से, हमने पहचाना है कि चिकन एकल केंद्रक कोशिकाओं में टीएलआर माध्यित प्राकृत प्रतिरक्षा प्रतिक्रियाओं के लिए दो मार्ग महत्वपूर्ण होते हैं। ये एमवायडी88–आश्रित और टीआरआईएफ – आश्रित मार्ग हैं और हमने एसील और घागूर नस्लों में कार्यशील टीआरआईएफ – आश्रित मार्ग की भी पहचान की है। हमारे परिणामों के आधार पर, यह निष्कर्ष है कि एसील नस्ल अपेक्षाकृत अधिक प्रतिरोधी है, घागूस और ब्रॉइलर संयत रूप से प्रतिरोध है और दाहलेम रैड जीवाणु संक्रमणों के प्रति अपेक्षाकृत अधिक सुग्राह्य हैं।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

परियोजना 1 : भारतीय कुक्कुट में टीएलआर–4 संकेतक माध्यित जीवाणु रोग प्रतिरोध की भूमिका की जांच

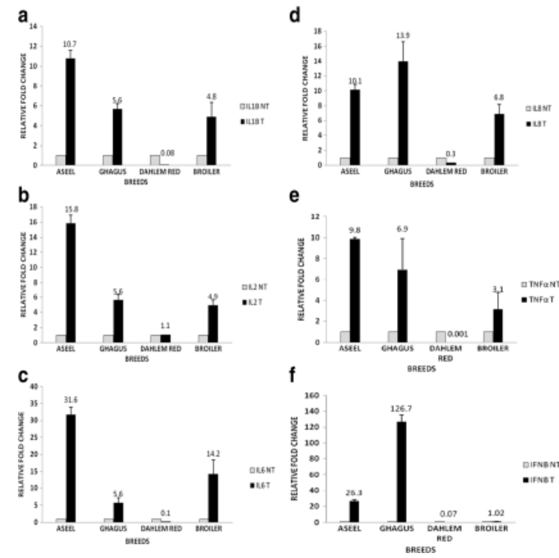
टीएलआर, जो सूक्ष्मजीविय रोगकारकों को भांप लेते हैं, पोषद प्रतिरक्षा प्रणाली के महत्वपूर्ण संघटक होते हैं। टीएलआर, रोगकारकों के खिलाफ प्राकृत रक्षा तंत्र, अनुकूलक प्रतिरक्षा का विकास करने में महत्वपूर्ण भूमिका निभाते हैं और संभवत संक्रमणों के प्रति सुग्राहयता के प्रमुख निर्धारक हैं। चूजों की विभिन्न नस्लों में प्रतिरोध पैटर्न का अध्ययन करने के लिए, टीएलआर 4 संकेतन मार्गों की व्यापक समझ अपेक्षित है। हमने परिमाणात्मक आरटी–पीसीआर एप्रोच का उपयोग करते हुए एलपीएस के उपचार पर चूजों की ब्राइलर (कॉब), एसील, दाहलेम रैड और घागूस नस्लों के पीबीएमसी में टीएलआर–4 मार्ग विनियमित जीनों की अभिव्यक्ति की जांच की। टीएलआर –प्रेरित एमवायडी88–आश्रित और एमवायडी88– स्वतंत्र मार्गों, दोनों में कुछ जीन अपरेगुलेटेड पाए गए थे। इन जीनों में टीएलआर 4, एमवायडी88, टीआरएएफ 6 और टीआरआईएफ और अनुलेखन कारक एनएफकेबी, आईआरएफ7 और आईएफएन बीटा शामिल हैं। हमने टीएलआर 4 के डाउनस्ट्रिमिंग संकेतन को और अधिक समझने के लिए शोथज साइोकाइन्सों जैसे आईएल2, आईएल 6, आईएल 8 और आईएल 1 बीटा और टीएनएफ अल्फा का भी अध्ययन किया। इन परिणामों से पता चला कि एमवायडी88–स्वतंत्र और टीआरआईएफ – स्वतंत्र मार्ग चिकन एक केंद्रक कोशिकाओं द्वारा माध्यित प्राकृत प्रतिरक्षा के लिए अधिक लाभकारी हैं। हमने एसील और घागूस नस्लों में टीआरआईएफ आश्रित मार्ग देखें। हमारे परिणाम सामान्य प्रेक्षण के अनुरूप है कि एसील नस्ल अधिक प्रतिरोधी है, घागूस और ब्राइलर्स कम प्रतिरोधी एवं दाहलेम रैड जीवाणु संक्रमणों के प्रति अधिक सुग्राही है।

सारांश

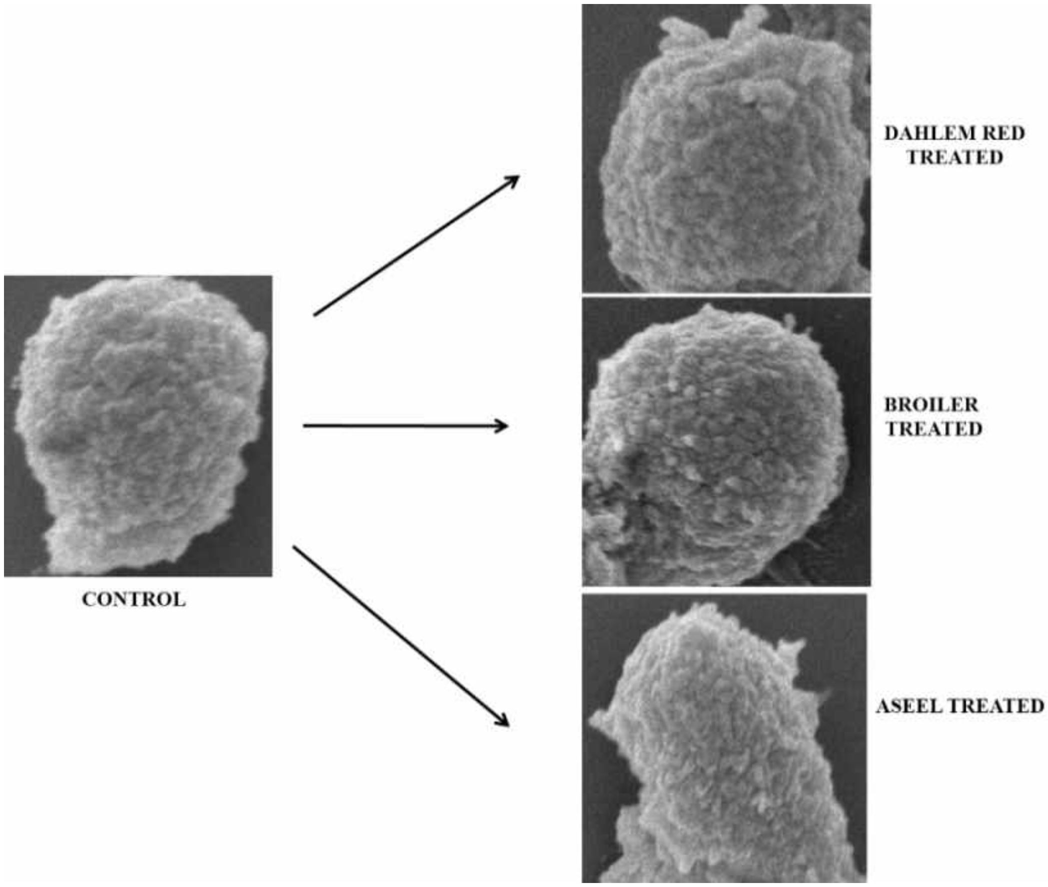
एसील और घागूस में शोथज साइटोकाईन्स जैसे आईएल 2, आईएल 6, आईएल 8 और आईएल 1 बीटा और टीएनएफ अल्फा में एकरूपी नियमन दिखाई दिया है। ब्राइलर में भी टीएनएफ अल्फा के सिवाय सभी साइटोकाइन्स का अप–रेगुलेशान दिखाई दिया (चित्र 1)। आकृतिक परिवर्तनों के बारे में जानने के लिए, हमने स्कैनिंग इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के तहत कोशिकाओं का प्रेक्षण किया। कोशिकाओं को एलपीएस के साथ उपचारित करने के बाद, कोशिका आकृतिक एवं इसकी सतह पर प्रभाव हुआ। नियंत्रण कोशिकाओं के साथ तुलना करने पर, उपचारित नमूनों में कणिकामयता, कोशिका के आकार और पहचानी गई भारी कटकों, रूक्ष सतह और कोशिकाओं के संचयन में बढ़ोत्तरी हुई है।

प्रकाशन :

1. क्रांति एच के, पेसुप्यूलेटी एस आर, कंडी आर, उंडी आर बी, साहू आई, काण्णकी टी आर, सुब्बैया एम, गुलाटी आर के (2015). टीएलआर–4 सिग्नलिंग पाथवे : एमवायडी88 इंडिपेंडेंट पाथवे अप–रेगुलेशन इन चिकन ब्रीड्स अपोन एलपीएस ट्रीटमेंट। वेटरनरी रिसर्च कम्युनिकेशंस। 39:73–78।



चित्र 1क. कुक्कुट की विभिन्न नस्लों में शोथज साइटोकाइन्स की अभिव्यक्ति। क. आईएल 1 बीटा ख. आईएल 2 ग. आईएल 6 घ. आईएल 8 ड. टीएनएफ अल्फा च. आईएनएफ बीटा छडें, ('पीढ0.01) के साथ तीन स्वतंत्र प्रयोगों के औसत माध्य ± एसडी को दर्शाती हैं। इन मानों को बीटा – एसिटिन के प्रति सामान्यीकृत किया गया है, और एलपीएस उपचारित (टी) एमआरएनए मानों को गैर – उपचारित नमूने की तुलना में सापेक्ष अभिव्यक्ति के रूप में अभिव्यक्त किया गया है।



चित्र 1 ख. एलपीएस से उपचारित पीबीएमसी का स्कैनिंग इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मग्राफ। पीबीएमसी को चूजे की दाहलेम, ब्राइलर और एसील नस्लों से पृथक किया गया और 39 डिग्री से. पर 2 घंटे तक एलपीएस (10 माइक्रो ग्राम / मि. 1) से उपचारित किया। इन कोशिकों को ग्लूटारल्डिहाइड में नियत किया गया, निर्जलीकृत किया गया, स्वर्ण में कवर किया गया और स्कैनिंग इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मग्राफ के तहत प्रेक्षित किया गया था।

लेप्टोस्पायरोसिस की स्क्रीनिंग के लिए प्रतिरक्षा आमापन का विकास और मान्यता

पशु जीव विज्ञान विभाग, हैदराबाद विश्वविद्यालय

प्रधान अन्वेषक : मंजुला श्रीधरण, प्रोफेसर, एचसीयू

पीएच.डी छात्र : रीतिका चौरसिया

सहयोगकर्ता : आनंद श्रीवास्तव, वैज्ञानिक सी, एनआईएबी

उद्देश्य

एचबीपीए महज रोगकारक लेप्टास्पाइरा एसपीपी. द्वारा अभिव्यक्त हेमिन–बंधन प्रोटीन है। लेप्टोस्पाइरोसिस के लिए जांच में प्रत्याशी प्रतिजन के तौर पर इसकी उपयोगिता ने हमें उपयोग करने में आसान निदान उपकरण विकासित करने के लिए प्रेरित किया। इसके निम्नलिखित दो प्रमुख उद्देश्य हैं :

(क) एचबीपीए और स्फिग्नोमाइएलिनेज के खिलाफ एंटीबॉडीज का पता लगाने के लिए एक एलाइजा – आधारित प्रणाली विकसित करना।

(ख) लेप्टोस्पाइरोसिस के आशंकित मामलों के शुक्राणुओं में एचबीपीए – प्रतिरोधी एंटीबॉडीज का पता लगाने के लिए लेटरल प्रवाह उपकरण का विकास।

मार्च, 2014 तक किए गए कार्य का सारांश

पूर्ण लंबाई के एचबीपीए का विश्लेषण करने पर, आकार 34केडीए के आरएचबीपीए–एफ3 उपयुक्त खण्ड को क्षेत्र में मौजूद बी कोशिका एपिटॉप की अतिधकतम संख्या के आधार पर प्रतिजन के तौर पर चुना गया था। इस प्रोटीन को कोडित करने वाले जीन का पीईटी28ए (+) में क्लोन बनाया गया और अभिव्यक्ति के लिए इष्टतम उपयोग और आरएचबीपीए–एफ3 प्रोटीन का शुद्धिकरण किया गया था। इस प्रतिजन का उपयोग करते हुए एलाइजा का मानकीकरण किया गया और लेप्टोस्पाइरोसिस से आशंकित गोयक्ष्मा एवं मानव शुक्राणु नमूनों से की एचबीपीए – प्रतिरोधी एंटीबॉडीज के लिए जांच की गई थी। जबकि निदान किट तैयार करने के लिए मुख्य फोकस प्रतिजन के रूप में एचबीपीए पर था, आरएसपीएच[3] (स्फिंगोमाइएलिनेज) का मूल्यांकन किया गया है। गोयक्ष्मा एवं मानव, दोनों के नमूनों में एलाइजा में प्रतिजन के रूप में के साथ सहधर्मिता के लिए शुद्धिकृत, प्रोटीन का परीक्षण किया गया था।

एचबीपीए – एलाइजा का निष्पादन काफी लाभदायक था और स्वस्थ नियंत्रणों में एंटीबॉडीज के निम्न स्तरों की तुलना में आशंकित मामलों में उच्च अनुमाप दिखाई दिए। इन परिणामों की सूक्ष्मदर्शी एग्लूटीनेशन परीक्षण के साथ तुलना की गई और इसके अलावा, सुस्थापित प्रतिजन लिप 41 का उपयोग करते हुए अन्य एलाइजा – आधारित परीक्षण का सुझाव दिया गया। इसके अतिरिक्त, लेट्रल फ्लो उपकरण में इसके प्रदर्शन के लिए प्रतिजन का परीक्षण किया गया था।

इस प्रतिवेदनाधीन वर्ष में की गई प्रगति के विवरण (1 अप्रैल 2014 – 31 मार्च, 2015)

इससे पूर्व गोयक्ष्मा शुक्राणु नमूनों के साथ एचबीपीए – एलाइजा किया गया था। एमएटी पॉजिटिव और नेगेटिव नमूनों, दोनों में एचबीपीए – प्रतिरोधी एंटीबॉडी का अनुमाप उच्च था। स्वर्ण मानक के तौर पर एमएटी के साथ यह विसंगति इस तथ्य के कारण थी कि अध्ययन के लिए सिरोवर्स की केवल विशिष्ट संख्या को शामिल किया गया था। एमएटी नेगेटिव नमूनों में, यह अत्यधिक संभव था कि ऐसा आमापन में विशिष्ट संक्रमित सेरोवर न होने के कारण था। अतः एचबीपीए–एलाइजा में प्राप्त आंकड़ों की तुलना करने हेतु लिप 41 एलाइजा को शामिल किया गया था।

आरएलआईपीएल41 की क्लोनिंग, अभिव्यक्ति और शुद्धिकरण पूरा किया गया था। गोयक्ष्मा शुक्राणु नमूनों (103) के साथ एलाइजा का निष्पादन किया गया था और प्रतिजन के रूप में आरएचबीपीए के साथ हासिल अनुमापों से इसकी तुलना की गई थी (चित्र 1)।

प्रतिजनों के रूप में आरएचबीपीए और एसपीएच3 का उपयोग करते हुए मानव शुक्राणु नमूनों की जांच की गई थी (चित्र 2)। तालिका 1 में निष्कर्षों का सांख्यिकीय विश्लेषण दर्शाया गया है। यह देखा जा सकता है कि मानव नमूनों में प्रदर्शन, गोयक्ष्मा नमूनों में देखे गए प्रदर्शन की तुलना में श्रेष्ठतर था। चित्र 3 में एमएटी–पॉजिटिव शुक्राणु नमूने में एचबीपीए के खिलाफ एंटीबॉडीज का पता लगाया है।

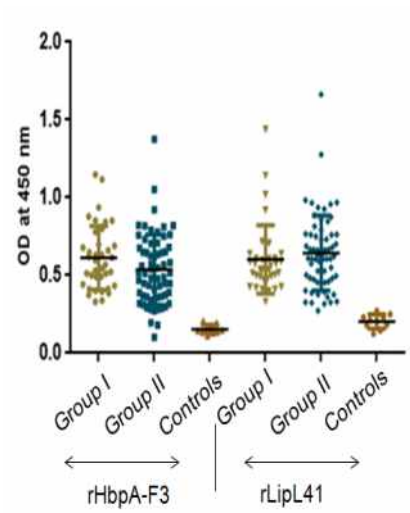
सारांश

एलाइजा का उपयोग करते हुए एचबीपीए–प्रतिरोधी एंटीबॉडीज के लिए गोयक्ष्मा और मानव शुक्राणु नमूनों की जांच काफी संतोषप्रद थी। जबकि, गोयक्ष्मा और मानव शुक्राणु नमूनों, दोनों के साथ संवेदनशीलता अच्छी थी, विशिष्टता, एमएटी की तुलना में कम थी। तथापि, जब लिप 41 से तुलना की गई, इसमें अच्छी खासा सुधार था। जैसा अन्य में भी नोट किया गया है, हालांकि एमएटी विशिष्ट है, इसमें मामलों को नहीं पहचाना गया जब सेवावर्स के पैनल में विशिष्ट सेरोवर का विलोप किया गया है। अतः दो प्रतिजनों का उपयोग करते हुए एलाइजा – आधारित जांच का उपयोग किया जा सकता है। जारी कार्य लिप 41 के साथ मानव शुक्राणु नमूनों के साथ किया जा रहा है। परिणाम, लेटरल फ्लो उपकरण के साथ काफी संतोषप्रद हें। कई नमूनों की जांच की गई है। उपकरण में परिष्कार के लिए कार्य किया जा रहा है।

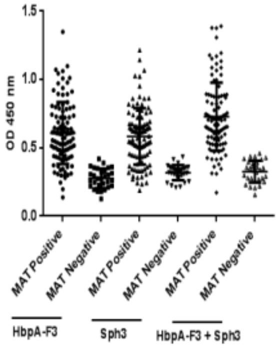
तालिका 1. एचबीपीए–एलाइजा, एचबीपीए–एलाइजा और सम्मिश्र प्रतिजन बनाम एमएटी का सांख्यिकीय विश्लेषण

Parameter	rHbpA-F3	rSph3	rHbpA-F3+rSph3
Sensitivity (95% CI)	**91** (82.99 - 96.44)	**92** (85.56 – 97.21)	**96** (89.54 – 99.19)
Specificity (95% CI)	**76** (61.83 - 86.93)	**90** (78.17 – 96.63)	**78** (64.03 – 88.46)
Positive predictive value (95% CI)	**86** (76.89 – 92.57)	**94** (86.00 – 97.92)	**88** (78.96 – 93.66)
Negative predictive value (95% CI)	**84** (70.54 – 93.48)	**88** (76.12 – 95.53)	**93** (80.49 – 98.42)

तीन प्रतिजन–आधारित परीक्षणों के बीच समानता के दायरे का मूल्यांकन एमईडीसीएएल सॉफ्टवेयर (संस्करण 11.5.0.0) का उपयोग करते हुए कप्पा सांख्यिकी विश्लेषण द्वारा किया गया है।



चित्र 1. गोयक्ष्मा नमूनों की जांच में एचबीपीए–एलाइजा बनाम एचबीपीए–एलाइजा का निष्पादन। लेप्टोस्पाइरा के आशंकित कैटलों से समूह 1 और 2 के शुक्राणु जो जांच में क्रमशः एमएटी पॉजिटिव और नेगेटिव थे। नियंत्रण, स्वस्थ पशुओं से शुक्राणु को दर्शाते हैं।



चित्र 2. लेप्टोस्पाइरा के आशंकित रोगियों के शुक्राणु में एचबीपीए–प्रतिरोधी और एसपीएच3–प्रतिरोधी एंटीबॉडीज का एलाइजा – आधारित पता लगाना। तीन प्रतिजनों नामतः आरएचबीपीए – एफ3, आरएसपीएच3 और दानों प्रतिजनों के सम्मिश्र के साथ एलाइजा का निष्पादन किया गया था।

(a)

(b)

चित्र 3. एचबीपीए–प्रतिरोधी एंटीबॉडीज का पता लगाने के लिए लेटरल फ्लो उपकरण। पैनल (ए) पॉजिटिव है जिसमें (सी) और (टी), दोनों नियंत्रण लाइनों का विकास दर्शाया गया है जबकि पैनल (बी) एमएटी नेगेटिव नमूने को दर्शाता है और यह भी एचबीपीए–प्रतिरोधी एंटीबॉडीज के लिए नेगेटिव था।

प्रकाशन : (एनआईएबी संबद्धता के साथ सूचीबद्ध) :

क. 2014 में प्रकाशन :

1. लता टी एस, रेड्डी एम सी, दुरबाका पी वी, रचामल्लु ए, रेड्डाना पी और लोमडा डी (2014)। γδ टी सेल–मीडिएटिड इम्यून रिस्पोंसिस इन डिजीज एंड थैरेपी। **फ्रंटियर्स इन इम्यूनोलॉजी** 5 : 571.
2. मुथुचेलवन डी, डी ए, देबनाथ बी, चौधरी डी, वेंकटेशन जी, रजक के के, सुधाकर एस बी, हिमाद्री डी, पांडे एबी और परीदा एस (2014). मॉलीकुलर करेक्टराइजेशन ऑफ पेस्ट–डेस – पेटिट्स रूमिनेंट्स वायरस (पीपीआरवी) आइसोलेटिड फ्रॉम एन आउटब्रेक इन द इंडो – बांग्लादेश बॉर्डर ऑफ त्रिपुरा स्टेट ऑफ नॉर्थ–ईस्ट इंडिया। **वेटनरी माइक्रोबायोलॉजी** 174: 591–595.
3. कुमार के एस', बाबु ए ', सुंदरपांडियन जी, रॉय पी, थांगावेलु ए, कुमार के एस, अरुमुगम आर, चंद्रन एन डी, मुनिराजु एम, महापात्रा एम, बैनयार्ड ए सी, मनोहर बीएम एंड परीदा एस (2014). मॉलीकुलर करेक्टराइजेशन ऑफ लाइनेज IV पेस्टे डेस पेटिट्स रूमिनेंटेस वायरस असिंग मल्टी जीन सिक्वेंस डेटा। वेटेरीनरी माइक्रोबायोलॉजी 174 : 39–49. (*इक्वेल कॉन्ट्रीब्यूशन)
4. राव एस बी, गुप्ता वी के, कुमार एम, हेगड़े एन आर, स्पिलटर जी ए, रेड्डाना पी और राधाकृष्णन जी के (2014). ड्राफ्ट जीनोम सिक्वेंस ऑफ द फील्ड आइसोलेटिड ब्रुसेला मेलिटेंनियस स्ट्रेन बीएम इंडिया–1 फ्रॉम इंडिया। जीनोम अनाउंसेमेंट्स 2 : ई00497–14.

ख. 2015 में प्रकाशन :

1. कल्लुबाई एम, रचामल्लु ए, योगोनी डी पी और सुब्रामणियम आर (2015). कम्पेरेटिव बाइंडिंग मैकेनिज्म ऑफ ल्यूपियोल कम्पाउंड्स विद प्लाज्मा प्रोटींस एंड इट्स फर्माकोलॉजिकल इम्पोर्टेंट। **मॉलीकुलर बायोसिस्टम्स**। 11:1172–1183.
2. क्रांति एच के, पेसुप्यूलेटी एस आर, कंडी आर, उंडी आर बी, साहू आई, काण्णकी टी आर, सुब्बैया एम, गुट्टी आर के (2015). टीएलआर–4 सिग्नलिंग पाथवे : एमवायडी 88 इंडिपेंडेंट पाथवे अप–रेगुलेशन इन चिकन ब्रीड्स अपोन एलपीएस ट्रीटमेंट। **वेटेरीनरी रिसर्च कम्युनिकेशंस** 39 : 73–78.
3. रेड्डी के के, विद्या राजन वी के, गुप्ता ए, अपरॉय पी और रेड्डाना पी (2015) एक्सप्लोरेशन ऑफ बाइंडिंग साइट पैटर्न इन एरेकिडोनिक एसिड मेटाबोलिज्म एंजाइम्स, साइक्लोऑक्सीजनेस एंड लिपोक्सीजीनेसिस। **बीएमसी रिसर्च नोट्स** 8: 152.
4. संह वी पी, गुरूनाथन सी, सिंह एस, सिंह बी, ज्योति लक्ष्मी बी, मिश्रा ए पी, कुमार एस (2015) जेनेटिक डिलेशन ऑफ डब्ल्यूडीआर 13 इम्प्रूव्स मेटाबोलिक फिनोटाइप ऑफ लेप आरडीबी / डीबी माइस बाय मॉड्यूलेटिंग एपी1 एंड पीपीएआर टार्गेट जींस। **डायबेटोलॉजिया** 58 : 384–392.

एनआईएबी में व्याख्यान, संगोष्ठी / प्रस्तुतियां

विशिष्ट व्याख्यान

एनआईएबी ऑडिटोरियम में 5 मार्च 2014 को डॉ. जन टी किम, पाइरब्राइट इंस्टीट्यूट, गिल्डफोर्ड, यूनाइटेड किंगडम में जैव सूचना विज्ञान के प्रमुख द्वारा ''कंप्यूटेशनल एप्रोचेस टु बायोलॉजिकल सिस्टम''।

एनआईएबी ऑडिटोरियम में 20 मार्च 2014 को डॉ. माना महापात्रा, वरि. वैज्ञानिक, पाइरब्राइट इंस्टीट्यूट, यूके द्वारा ''जेनेटिक डिटर्मिनेट्स ऑफ एंटीबॉडी मेडिएटेड प्रोटेक्शन इन एफएमडी''।

एनआईएबी ऑडिटोरियम में 13 जून 2014 को प्रो. मोह. अमिन बेग, प्रोफेसर और प्रमुख, फंडामेंटल एंड एप्लाइड बायोलॉजी समूह, किंग फाहड मेडिकल रिसर्च सेंटर, किंग एब्डुलेजिज यूनिवर्सिटी, पीओ बॉक्स 80216, जेद्दाह 21589, किंगडम ऑफ सउदी अरेबिया द्वारा ''रिसेंट कान्सेप्ट्स ऑफ ओवरियन फोलिकल सिलेक्शन इन मोनोवेलेटरी स्पेसिस''।

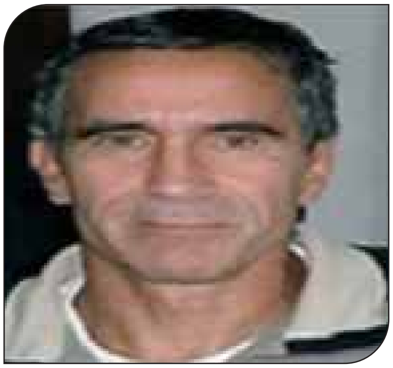
एनआईएबी ऑडिटोरियम में 4 सितंबर 2014 को प्रो. कजूहीको यमादा, प्रोफेसर और निदेशक, सेंटर फॉर एडवांस्ड बायोमेडिकल साइंस एंड स्वाइन रिसर्च, कागोशिमा यूनिवर्सिटी, जापान द्वारा ''द रोल ऑफ लार्ज एनिमल मॉडल्स इन ट्रांसप्लांटेशन / ट्रांसलेशनल – रिसर्च – स्पेशियल फोक्स ऑन एमएचसी इंब्रेड एंड जीन केओ / टीजी मिनिएचेर स्वाइन''।

एनआईएबी ऑडिटोरियम में 23 सितंबर 2014 को डॉ. उदय पठानिया, वेलकम ट्रस्ट रिसर्च फैलो, यूनिवर्सिटी ऑफ सैंट एंड्रूज, यूके द्वारा ''क्वांटिफिकेशन ऑफ एफएमडीवी रेप्लीकॉन – डेरिव्ड आरएनए रेप्लीकेशन बाय –सेल फ्लोरसेंस इमेजिंग''।

एनआईएबी ऑडिटोरियम में 18 नवंबर 2014 को डॉ. रमेश वेलुलापल्ली, पशु चिकित्सा प्रतिरक्षा विज्ञान / सूक्ष्म जीव विज्ञान के विभाग प्रमुख और प्रोफेसर, डिपार्टमेंट ऑफ कॉम्परेटिव पैथोबायोलॉजी, कॉलेज ऑफ वेटेरिनरी मेडिसिन, पर्ड्यू यूनिवर्सिटी, इंडियाना, यूएसए द्वारा ''बैटर वैक्सीन्स फॉर ब्रुसेलोसिस''।

एनआईएबी ऑडिटोरियम में 11 दिसंबर 2014 को प्रो. सत्या परिदा, प्रमुख, वैक्सीन डिफरेंसिएशन ग्रूप, पाइरब्राइट इंस्टीट्यूट, पाइरब्राइट, यूके द्वारा ''अपडेट्स ऑन करंट रिसर्च फॉर एफएमडी एंड पीपीआर : यूज ऑफ रिजर्व जेनेटिक्स टेक्नीक्स टू इम्प्रूव एक्जिटिंग वैक्सीन्स''।

एनआईएबी ऑडिटोरियम में 17 दिसंबर 2014 को डॉ. एशली सी बनयार्ड, वन्यजीव जूनोसेस और वेक्टर जनित रोग अनुसंधान समूह, विशाणु विज्ञान विभाग, एनिमल एंड प्लांट हेल्थ एजेंसी, वूडहेम लेन, वेब्रिज, सुरेय, यूके द्वारा ''रेबीज एंड द लिसविरुसेस : एंसिएंट एनेमिस, न्यू थ्रेक्ट्स एंड फ्यूचर पर्सपेक्टिव्स।



एनआईएबी ऑडिटोरियम में 27 फरवरी 2015 को प्रो. हार्टमूट कुहन, प्रोफेसर, जैव रसायन संस्थान, चेरिट – यूनिवर्सिटी मेडिसिन बर्लिन, जर्मनी द्वारा ''ऑक्सीलिपिड सिगनलिंग इन होस्ट – पैथोजीन इंटरेक्शन''।

संगोष्ठी श्रृंखला

- एनआईएबी ऑडिटोरियम में 19 मई, 2014 को डॉ. अजीत प्रताप सिंह, क्रोमेटिन और जीन अभिव्यक्ति समूह, लेबोरेटरी ऑफ मॉलीकुलर कार्सिनोजेनेसिस, नेशनल इंस्टीट्यूट ऑफ एनावायर्नमेंटल हेल्थ साइंसेज / नेशनल इंस्टीट्यूट ऑफ हेल्थ, रिसर्च ट्रिंगल पार्क, एनसी 27709, यूएसए द्वारा ''जेनेटिक एंड एपिजेनेटिक रेगुलेशन अंडरली मैमलियन डेवपलमेंट एंड रिप्रोडक्शन''।
- एनआईएबी ऑडिटोरियम में 3 जून 2014 को डॉ. गोपाल पांडे, मुख्य वैज्ञानिक, सीएसआईआर सेंटर फॉर सेलुलर एंड मॉलीकुलर बायोलॉजी, उप्पल रोड, हैदराबाद 500 007 द्वारा ''बायोसेफ्टी एंड बायोरिस्क मैनेजमेंट इन लेबोरेटरीज''।
- एनआईएबी ऑडिटोरियम में 5 जून 2014 को डॉ. रामानुज बनर्जी, वैज्ञानिक डी, विज्ञान और औद्योगिकी अनुसंधान विभाग, विज्ञान एवं प्रौद्योगिकी मंत्रालय, भारत सरकार द्वारा ''प्रोमोटिंग इनोवेशन्स इन इंडिविजुअल्स, स्टार्ट – अप एंड एमएसएमई (पीआरआईएसएम)''।
- एनआईएबी ऑडिटोरियम में 13 जून 2014 को डॉ. मोनिका सचदेव, वरिष्ठ वैज्ञानिक, ट्रांसजेनिक सुविधा प्रभारी, एंडोक्राइनोलॉजी प्रभाग, केंद्रीय औषधि अनुसंधान संस्थान, सीतापुर रोड, लखनऊ – 226 031 द्वारा ''नोवल ऊसाइट स्पेसिफिक प्रोटीन्स आर एसोसिएटेड विद् अर्ली एम्ब्रयोनिक डेवलपमेंट''।
- एनआईएबी ऑडिटोरियम में 25 जुलाई 2014 को डॉ. लबनयमोय कोले, वैज्ञानिक, वीआईएनएस बायोप्रोडक्ट्स लि., एसशस हाउस, रोड नं. 3, बंजारा हिल्स, हैदराबाद, तेलंगाना – 500034 द्वारा ''बेल्ट डेवलपमेंट एंड ऑगमेंटेशन ऑफ हाइपोक्सिक लंग इंजरी इन माइक डिफिसिएंट इन एनक्यूओ1 एंड एनक्यूओ2''।
- एनआईएबी सम्मेलन कक्ष में 11 अगस्त 2014 को डॉ. सुदर्शन रेड्डी लोकीरेड्डी, कोशिका जीवविज्ञान विभाग, हार्वर्ड मेडिकल स्कूल, बॉस्टन, एमए 02115 द्वारा ''सीएएमपी – इंडुस्ड फोस्फोरायलेशन ऑफ द 26एस प्रोटियासम एन्हांस डिग्रेडेशन ऑफ मिसफोल्डेड प्रोटीन्स''।
- एनआईएबी ऑडिटोरियम में 16 सितंबर 2014 को डॉ. एस. एन. सिंह, प्रबंध निदेशक, बायोवेट प्राइवेट लिमिटेड, बैंगलोर द्वारा ''वैक्सीन डेवलपमेंट''।
- एनआईएबी ऑडिटोरियम में 18 सितंबर 2014 को डॉ. सी एम संतोष कुमार, अनुसंधान एसोसिएट, राष्ट्रीय कोशिका विज्ञान केंद्र (एनसीसीएस), पुणे द्वारा ''अंडरस्टैंडिंग द बायोलॉजी ऑफ माइकोबैक्टीरियम मॉलीकुलर चपेरोनेस''।
- एनआईएबी ऑडिटोरियम में 24 सितंबर, 2014 को डॉ. एच. के. प्रधान, पूर्व निदेशक, हाई सिक्योरिटी एनिमल डिजीज लेबोरेटरी, भोपाल द्वारा ''बायोसेफ्टी एंड बायोसिक्योरिटी फॉर ह्यूमन एंड एनिमल हेल्थ''।
- एनआईएबी ऑडिटोरियम में 21 नवंबर, 2014 को डॉ. रामप्रसाद ओ. जी., वरिष्ठ अनुसंधान एसोसिएट, भारत – अमेरिकन कैंसर अस्पताल एंड रिसर्च इंस्टीट्यूट, हैदराबाद – 500 034 द्वारा ''फंक्शन्स ऑफ सेल सरफेस रिसेप्टर्स इन सेल माइग्रेशन कैंसर एंड होस्ट – पैथोजीन इंटरेक्शन''।
- एनआईएबी ऑडिटोरियम द्वारा 26 फरवरी, 2015 को डॉ. गोएट्ज़ लेबल, एजीरिसर्च, रौकुरा रिसर्च सेंटर, न्यूजीलैंड द्वारा ''जेनेटिक इंजीनियरिंग स्ट्रेटेजीस टु टेलर मिल्क कम्पोजिशन फॉर ह्यूमन नीड्स''।

मंगलवार संगोष्ठी / पत्रिका क्लब

1	सुश्री नीना जॉर्ज परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	द स्ट्रक्चर ऑफ प्लाज्मोडियम योइलिमेरोजॉइट सरफेस प्रोटीन 19, एंटीबॉडी स्पेसिफाइसिटी एंड इम्प्लीकेशन्स फॉर मलेरिया वैक्सीन डिजाइन''	3 जून 2014
2	सुश्री बिंदु भार्गवी परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	पीपीएआरपाई गामा– मीडिएटेड इंक्रिज इन ग्लुकोज एवेलेबिलिटी सस्टेन्स क्रॉनिक ब्रुसेलेबोर्टुस इंफेक्शन इन अल्टरनेटिवली एक्टिवेटेड मैक्रोफेज''	17 जून 2014
3	श्री नवीन गुज्जर परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	रेशनल डिजाइन ऑफ थर्मोस्टेबल वैक्सीन्स बाय इंजीनियर्ड पेप्टाइड – इंड्युस्ड वायरस सेल्फ बायोमिनरलाइजेशन अंडर फिजियोलॉजिकल कंडिशन्स	24 जून 2014
4	श्री अक्षय जोशी परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	एक्टिवेटेड प्लेटलेट – रिच प्लाज्मा इम्प्रूव्स एडिपोस – डेरिव्ड स्टेम सेल ट्रांसप्लांटेशन एफिशिएंसी इन इंजर्ड आर्टिकुलर कार्टिलेज	1 जुलाई 2014
5	डॉ. अनिल कुमार कोठा अनुसंधान एसोसिएट एनआईएबी, हैदराबाद	एनसीओआर रिप्रेशन ऑफ एलक्सआर रिस्ट्रीक्ट्स मैक्रोफेज बायोसिंथेसिस ऑफ इनसुलिन सेंसिटाइजिंग ओमेगा 3 फैटी एसिड्स सेल 155, 200–214, 26 सितंबर, 2013	8 जुलाई 2014
6	सुश्री स्वाति मेरुगु परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	एवेल्यूशन ऑफ स्पर्म सेक्स – सोर्टिंग मैथड यूजिंग फ्लो साइटोमेट्री इन हैंवू (कोरियन नेटिव कैटल)	5 अगस्त 2014
7	सुश्री एस श्रीरावली परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	एंटी – इंफ्लेमेटरी मैकेनिज्म ऑफ पॉलीअंस्टुरेटेड फैटी एसिड्स इन हेलीकोबैक्टर पायलोरी – इंफेक्टेड गैस्ट्रिक एपिथेलियल सेल्स	12 अगस्त 2014
8	सुश्री राखी हर्ने परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	हिमोग्लोबिन डाइजेशन इन ब्लड – फीडिंग टिक्स : मैपिंग ए मल्टीपेप्टाइडस पाथवे बाय फंक्शनल प्रोटियोमिक्स	26 अगस्त 2014
9	डॉ. हिमाबिंदु गली अनुसंधान एसोसिएट एनआईएबी, हैदराबाद	इंडक्शन ऑफ माउस जर्म – सेल फैट बाय ट्रांसक्रिप्शन फैक्टर्स इन विट्रो	2 सितंबर 2014
10	डॉ. पद्मजा जक्का परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	इंफ्लेमेटरी केसपेसेस आर इनेट इम्युन रिसेप्टर्स फॉर इंट्रासेलुलर एलपीएस	30 सितंबर 2014
11	डॉ. अभिजीत देशमुख वैज्ञानिक (इनस्पेयर अध्येता) एनआईएबी, हैदराबाद	म्यूटेशन्स इन ओआरसी1, एंकोडिंग द लार्जेस्ट सबयूनिट ऑफ द ओरिजिन रिकॉगनाइजेशन कॉम्प्लेक्स, एक्यूज माइक्रोसेफेलिक प्रीमोर्डियल ड्वारफिस्म रेसेम्बिलिंग मेयर – गोर्लिन सिंड्रोम।	14 अक्टूबर 2014
12	डॉ. अपर्णा रचमल्लु महिला वैज्ञानिक एनआईएबी, हैदराबाद	आरएनए वायरेस प्रोमोट एक्टिवेशन ऑफ द एनएलआरपी3 इंफ्लेमैमसम थ्रु ए आरआईपी1 – आरआईपी3 – डीआरपी1 सिगनलिंग पथवे	5 नवंबर 2014

13	सुश्री बिंदु भार्गवी परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	द ब्रुसेल्ला टीआईआर डोमेन कंटेनिंग प्रोटीन्स बीटीपीए एंड बीटीपीबी हेव ए स्ट्रक्चरल डब्ल्यूएक्सएक्सएक्सई मोटिफ इम्पोर्टेंट फॉर प्रोटेक्शन अगेंस्ट माइक्रोट्युबुल डिपॉलीमेराइजेशन	18 नवंबर 2014
14	डॉ. दिलीप कुमार रेड्डी वी अनुसंधान एसोसिएट एनआईएबी, हैदराबाद	नैनोवायर – बेस्ड सिंगल –सेल एंडोस्कोपी	2 दिसंबर 2014
15	श्री नवीन गुज्जर परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	बायोलॉजिकल कैरेक्टराइजेशन एंड कम्प्लीट जीनोम सिक्वेंस ऑफ ''कोमेरोव'' ए मेसोजेनिक वेक्सिनल स्ट्रेन ऑफ न्यूकेसल डिजीज वायरस	16 दिसंबर 2014
16	सुश्री राखी हर्ने परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	प्रोडक्शन ऑफ फीमेल बोवाइन एम्ब्रोयस विद् सेक्स – सॉर्टेड स्पर्म यूजिंग इंट्राकाइटोप्लाज्मिक स्पर्म इंजेक्शन : एफिसिएंसी एंड इन विट्रो डेवलपमेंटल कॉम्पेटेंस	3 फरवरी 2015
17	डॉ. वसुंधरा भंडारी अनुसंधान एसोसिएट, एनआईएबी, हैदराबाद	ए न्यू एंटीबायोटिक किल्स पैथोजीन्स विदआउट डिटेक्टेबल रेजिस्टेंस	10 मार्च 2015
18	सुश्री हिता परियोजना अध्येता एनआईएबी, हैदराबाद	कोवेलेंट बॉन्ड ऑर नॉनकोवेलेंट बॉन्ड : एसुपरमॉलीकुलर स्ट्रेटेजी फॉर द कंस्ट्रक्शन ऑफ कैमिकली सिंथेसाइज्ड वैक्सीन्स	31 मार्च 2015

मेजबान – रोगजनक अंतःक्रियाओं पर अंतरराष्ट्रीय सम्मेलन (आईसीएचपीआई)

12 से 15 जुलाई 2014 के बीच स्कूल ऑफ लाइफ साइंसिस, हैदराबाद विश्वविद्यालय

मेजबान – रोगजनक अंतःक्रियाओं पर अंतरराष्ट्रीय सम्मेलन (आईसीएचपीआई) 12 से 15 जुलाई 2014 के बीच स्कूल ऑफ लाइफ साइंसिस, हैदराबाद विश्वविद्यालय में आयोजित किया गया।

मेजबान – रोगजनक के बीच होने वाली अंतःक्रियाओं कि एक समझ संक्रामक रोगों की प्रभावी रोकथाम और नियंत्रण के लिए अत्यंत अनिवार्य है। मेजबान और रोग जनक के बीच अंतः क्रियाओं को समझने के लिए अंतर विषयक मार्गों की जरूरत है। मेजबान – रोग जनक पर यह अंतरराष्ट्रीय सम्मेलन (आईसीएचपीआई) मवेशी और कुक्कुट सहित जूनोटिक संक्रमणों के संदर्भ में मेजबान – रोग जनक अंतः क्रियाओं के बुनियादी तथा उन्नत अध्ययनों पर केंद्रित है। आईसीएचपीआई का आयोजन मुख्य रूप से वैज्ञानिकों, पोस्ट डॉक और छात्रों के लिए एक मंच बनाने के साथ पशु चिकित्सा स्वास्थ्य में जाने माने उद्योगों हेतु किया गया, ताकि वे एक स्थान पर एकत्र हो सकें और आधुनिकतम अनुसंधान प्राप्तियों को साझा कर सकें। सम्मेलन के सत्रों में आण्विक जीव विज्ञान, सूक्ष्म जीव विज्ञान, प्रतिरक्षा विज्ञान, आनुवंशिकी और जीनोमिकी, मेजबान – रोगजनक अंतःक्रियाओं से संबंधित विषयों को शामिल किया गया। इसके अलावा, आईसीएचपीआई संक्रामक रोगों के उभरते हुए मुद्दों पर भी विचार मंथन सत्रों पर केंद्रित रहा, जिनका राष्ट्रीय तथा अंतरराष्ट्रीय महत्व है।

विभिन्न देशों के लगभग 400 व्यक्तियों, वक्ताओं, पेनलिस्ट, अध्यक्ष व्यक्तियों और प्रायोजकों ने सम्मेलन में हिस्सा लिया और प्रतिभागियों के लिए महान बौद्धिक तथा सामाजिक अंतः क्रिया का अवसर दिया।

सम्मेलन में निम्नलिखित व्यापक सत्र शामिल थे :

1. संक्रमण और प्रतिरक्षा (मवेशियों और मुर्गियों के संक्रामक रोगों तथा जूनोसिस पर फोकस)
2. मेजबान – रोगाणु अंतः क्रियाएं
3. शोथ और प्रतिरक्षण
4. एंटीबायोटिक प्रतिरोधकता
5. ट्रांसलेशनल अनुसंधान – टीका और नैदानिकी (महामारियों और विश्वमारियों की तैयारी सहित)

मेजबान – रोग जनक अंतःक्रियाओं पर जानकारी देने वाले कई प्रस्तुतीकरणों के साथ एफएमडी विचार मंथन सत्र अनुसंधान क्षेत्रों की पहचान करने और उन्हें प्राथमिकता देने पर केंद्रित थे, प्राप्तियों के सहयोगी भागीदारों ने व्यावहारिक कठिनाइयों पर चर्चा की तथा संभावित समाधान दिए। यह तथ्य कि एफएमडी को आईसीएचपीआई की चर्चा ने अधिक महत्व दिया जाए, इससे इस पर परम नियंत्रण की जरूरत को पूरा करने की तात्कालिकता जुड़ती है। सत्र की सिफारिशों से हमारे नीति निर्माताओं को उप महाद्वीप में रोग पर पूरा नियंत्रण लाने के लिए मुख्य बिंदु प्रदान किए गए।

आईसीएचपीआई में हुई पैनल चर्चा के आधार पर जैव सुरक्षा और जैव निरापदता प्रक्रियाओं से संबंधित मुद्दों को विभिन्न पणधारियों के सामने प्रकट किया गया। विशेषज्ञों ने सूचना और जागरूकता के मुद्दे पर जोर दिया, विनियमों और दिशानिर्देशों के कार्यान्वयन, शिक्षा और पहुंच, क्षमता निर्माण, जोखिम आकलन और जोखिम प्रबंधन पर भी बल दिया। अनुसंधान संस्थानों, शिक्षा जगत और उद्योग में सुरक्षा और निरापदता पर जागरूकता तथा प्रशिक्षण बढ़ाने के लिए भारत सरकार से एक सशक्त सिफारिश की गई कि इसे क्षमता निर्माण में अनिवार्य अंतरालों को भरने के लिए जैव सुरक्षा और जैव निरापदता को प्रभावी जैव जोखिम प्रबंधन लागू करने के लिए एक नए नजरिए से देखना चाहिए।

यह आगे सुझाव दिया गया कि एक जैव जोखिम प्रबंधन प्रशिक्षण अकादमी (बीआरएमटीए) की स्थापना की जाए, जिससे भारत को जैव प्रौद्योगिकी क्षेत्र में जैव जोखिम प्रबंधन पर लाभ और समझ प्रदान की जाए। बीआरएमटीए के लिए जरूरत पर बल देते हुए डॉक्टर बीएम गांधी द्वारा सीबीडब्ल्यू पत्रिका में एक लेख प्रकाशित किया गया जिसका शीर्षक था ''रिसेंट इंसिडेंस ऑफ ग्लोबल बायोसेफ्टी एण्ड बायोसिक्योरिटी लैप्सिस इन लैबोरेटरीज नीड रिलुक एट इंप्लीमेंटेशन ऑफ नेशनल पॉलिसिस'', बीएम गांधी (जुलाई – दिसंबर, 2014)

एंटीमाइक्रोबियल प्रतिरोधकता पर विचार मंथन सत्र के दौरान भारत में एंटीमाइक्रोबियल प्रतिरोधकता के तेज से फैलाव के महत्व पर विभिन्न क्षेत्रों में व्यापक चर्चा की गई थी, जैसे मानव स्वास्थ्य, पशु चिकित्सा विज्ञान और पर्यावरण। समग्र मानव – जंतु – पर्यावरण मार्ग के साथ रोग जनक पर केंद्रित मार्ग के प्रतिस्थापन द्वारा महामारी और उभरते हुए जूनोटिक रोगों के उन्मूलन के लिए ''वन हैल्थ'' पर एक समर्पित सत्र का आयोजन किया गया, जिसमें गहराई से चर्चा की गई। जन स्वास्थ्य विशेषज्ञों और वैज्ञानिकों ने आईसीएचपीआई में अनेक जूनोटिक रोग जनकों पर विचार किया – ऐसे कीट जो जंतु से मानव तक कूद कर आते हैं – इस बात की आवश्यकता तत्काल महसूस की गई कि इन्हें ''वन हैल्थ'' कार्यक्रम में स्थान दिया जाए जो रोगाणु से परे इन कारकों पर केंद्रित है।

एनआईएबी कार्मिकों की विदेशों में प्रतिनियुक्तियां

नाम और पदनाम	अवधि	दौरे का देश और उद्देष्य
प्रो. पी. रेड्डना निदेशक	08.09.2014 से 16.09.2014	वेटीरिनरी कैम्पस डुपेल ऑफ फ्रेइ यूनिवर्सिटी में ''फंक्शनल मॉलीकुलर इंफेक्शन एपिडर्मियोलॉजी'' पर भारत – जर्मन अनुसंधान प्रशिक्षण समूह (आईआरटीजी 1673) के स्थल मूल्यांकन पर फ्रेइ यूनिवर्सिटी, बर्लिन, जर्मनी में भाग लिया। पिरब्राइट इंस्टीट्यूट, यूके में एनआईएबी और परब्राइट इंस्टीट्यूट के बीच समझौता ज्ञापन पर हस्ताक्षर करने के लिए शताब्दी समारोह प्रस्तुतियों में भाग लिया और बीबीएसआरबी – भारत पार्टनरिंग पुरस्कार के भाग के रूप में एनआईएबी और स्कूल ऑफ वेटेरिनरी मेडिसिन के बीच चल रहे सहयोग की दृष्टि से द स्कूल ऑफ वेटेरिनरी मेडिसिन, यूनिवर्सिटी ऑफ नॉटिंघम, यूके का दौरा किया।
डॉ. सतीश कुमार वैज्ञानिक – एच	25.07.2014 से 03.08.2014	चीन ने आईएसएजी की व्यापार बैठक में भाग लिया – एफएओ सलाहकार समूह और आईएसएजी सम्मेलन में भाग लिया।
डॉ. सैयद फैसल रामालिंगास्वामी अध्येता	18.10.2014 से 30.10.2014	यूएसए ने अंतरराष्ट्रीय सम्मेलन की बैठक में भाग लिया और शीर्षक ''इम्युनोस्टीमुलेटरी एंड कंवेंशनल लिपोसम एडजुवेंट्स इंडुस डिस्टींक्ट डिफरेंसेस इन द मैगनीट्युड, क्वालिर्ट एंड काइनेटिक्स ऑफ इनेट एंड एडेप्टिव इम्युन रिस्पोंसेस'' शोध पत्र प्रस्तुत किया।

सूचना का अधिकार (आरटीआई) अधिनियम, 2015 का कार्यान्वयन

अपीलीय प्राधिकारी : डॉ. गिरीश के राधाकृष्णन

केंद्रीय लोक सूचना अधिकारी : हरजीत सिंह

एनआईएबी में प्राप्त किए गए आरटीआई अनुरोधों और अपीलों के बारे में विवरण

आरटीआई अधिनियम 2005 के तहत प्राप्त	1.4.2014 के अनुसार प्रारंभिक शेष	वर्ष 2014–15 के दौरान प्राप्त			वर्ष 2014–15 के दौरान निपटान				31.3.2015 के अनुसार समापन शेष
		प्रत्यक्ष रूप से प्राप्त	अन्य लोक प्राधिकरणों से अंतरण पर प्राप्त (अधिनियम की धारा 6(3) के तहत)	कुल	निर्णय जहां आवेदन / अपीलें स्वीकार की गई	निर्णय जहां आवेदन / अपीलें अस्वीकार की गई	अन्य लोक प्राधिकरणों को भेजी गई (अधिनियम की धारा 6(3) के तहत)	कुल	
आवेदन	0	1	5	6	6	0	0	6	0
अपीलें	0	0	लागू नहीं	0	0	0	लागू नहीं	0	0

संगठनात्मक संरचना

एनआईएबी संस्था

श्री जितेंद्र सिंह
माननीय विज्ञान और प्रौद्योगिकी और पृथ्वी विज्ञान मंत्री, भारत सरकार
अध्यक्ष (9 नवंबर 2014 तक)

डॉ. हर्ष वर्धन
माननीय विज्ञान और प्रौद्योगिकी और पृथ्वी विज्ञान मंत्री, भारत सरकार
अध्यक्ष (10 नवंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. के. विजय राघवन
सचिव, डीबीटी, नई दिल्ली

डॉ. एस. अय्याप्पन,
सचिव, डीएआरई, नई दिल्ली

सुश्री अनुराधा मित्रा
संयुक्त सचिव और वित्तीय सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली
(14 दिसंबर 2014 तक)

श्री जे बी महापात्रा
संयुक्त सचिव और वित्तीय सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली
(15 दिसंबर 2014 से प्रभावी)

प्रो. सुरेश एस होन्नाप्पागोल
आयुक्त, एएच, नई दिल्ली

डॉ. ए एस निनावे
सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली

प्रो. रामकृष्णा रामास्वामी
कुलपति, हैदराबाद विश्वविद्यालय, हैदराबाद

डॉ. गिरीश के राधाकृष्णन
वैज्ञानिक डी, एनआईएबी, हैदराबाद

डॉ. वी. ए. श्रीनिवास
इंडियन इम्युनोलॉजिकल्स, हैदराबाद

डॉ. एम. पी. जी. कुरुप, बैंगलोर
(9 सितंबर 2014 तक)

डॉ. विजय कुमार तनेजा
कुलपति, जीएडीवीएएसयु, लुधियाना
(9 सितंबर 2014 तक)

डॉ. लालजी सिंह
कुलपति, बनारस हिन्दू विश्वविद्यालय, वाराणसी
(9 सितंबर 2014 तक)

डॉ. सी. एस. प्रसाद
निदेशक, एनआईएएनपी, बैंगलोर
(9 सितंबर 2014 तक)

डॉ. एस. एन. सिंह
प्रबंध निदेशक, बायोवेट प्रा. लि., कर्नाटक
(9 सितंबर 2014 तक)

डॉ. सतीश टोंगाओंकर,
परामर्शदाता वेटेरीनरी बायोलॉजिकल्स, पुणे
(9 सितंबर 2014 तक)

डॉ. एच के प्रधान,
डब्ल्यूएचओ, नई दिल्ली
(9 सितंबर 2014 तक)

डॉ. सतीश कुमार,
वैज्ञानिक–एच, एनआईएबी हैदराबाद
(20 नवंबर 2014 तक)

डॉ. शाहिद जमील
वेलकम ट्रस्ट, हैदराबाद
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. आर. एन. के. बमेजै
जेएनयू, नई दिल्ली
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. ए. के. श्रीवास्तव
एनडीआरआई, करनाल
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. के. टी. सम्पथ, पूर्व – निदेशक
एनआईएएनपी, बैंगलोर
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. (सुश्री) अनुराधा आचार्य
ओसीमम बायो सोलूशन्स, हैदराबाद
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. सुरेश पोसाला
बीएमएस प्रीक्लिनिकल आर एंड डी वेटेरिनरी साइंस एंड टॉक्सीकोलॉजी, बैंगलोर
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. एस. के. बंदोपाध्याय
सदस्य, एएसआरबी, नई दिल्ली
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

प्रो. पी. रेड्डन्ना
निदेशक, एनआईएबी
(30 सितंबर 2014 तक)

डॉ. ज गौरीशंकर
प्रभारी निदेशक, एनआईएबी
(01 अक्टूबर 2014 से प्रभावी)

एनआईएबी शासी निकाय

डॉ. के. विजय राघवन
सचिव, डीबीटी, नई दिल्ली
अध्यक्ष

डॉ. एस. अय्यप्पन
सचिव, डीएआरई, नई दिल्ली

सुश्री अनुराधा मित्रा
संयुक्त सचिव और वित्तीय सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली
(14 दिसंबर 2014 तक)

श्री जे बी महापात्रा
संयुक्त सचिव और वित्तीय सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली
(15 दिसंबर 2014 से प्रभावी)

प्रो. सुरेश एस होन्नाप्पागोल
आयुक्त, एएच, नई दिल्ली

डॉ. ए. एस. निनावे
सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली

प्रो. रामकृष्णा रामास्वामी
कुलपति, हैदराबाद विश्वविद्यालय, हैदराबाद

डॉ. गिरीश के राधाकृष्णन
वैज्ञानिक–डी, एनआईएबी, हैदराबाद

डॉ. वी. ए. श्रीनिवास
इंडियन इम्युनोलॉजिकल्स, हैदराबाद

डॉ. एम. पी. जी. कुरुप, बैंगलोर
(9 सितंबर 2014 तक)

डॉ. विजय कुमार तनेजा
कुलपति, जीएडीवीएएसयू, लुधियाना
(09 सितंबर 2014 तक)

डॉ. लालजी सिंह
कुलपति, बीएचयू
(09 सितंबर 2014 तक)

डॉ. सी. एस. प्रसाद,
निदेशक, एनआईएएनपी, बैंगलोर
(09 सितंबर 2014 तक)

डॉ. एस. एन. सिंह
प्रबंध निदेशक, बायोवेट प्रा. लि., कर्नाटक
(09 सितंबर 2014 तक)

डॉ. सतीश टोंगाओंकर,
परामर्शदाता वेटेरीनरी बायोलॉजिकल्स, पुणे
(09 सितंबर 2014 तक)

डॉ. एच के प्रधान,
डब्ल्यूएचओ, नई दिल्ली
(09 सितंबर 2014 तक)

डॉ. सतीश कुमार,
वैज्ञानिक–एच, एनआईएबी हैदराबाद
(20 नवंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. शाहिद जमील
वेलकम ट्रस्ट, हैदराबाद
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. आर. एन. के. बमेजै
जेएनयू, नई दिल्ली
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. ए. के. श्रीवास्तव
एनडीआरआई, करनाल
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. के. टी. सम्पथ, पूर्व – निदेशक
एनआईएएनपी, बैंगलोर
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. (सुश्री) अनुराधा आचार्य
ओसीमम बायो सोलूशन्स, हैदराबाद
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. सुरेश पोसाला
बीएमएस प्रीक्लिनिकल आर एंड डी वेटेरिनरी साइंस एंड टॉक्सीकोलॉजी, बैंगलोर
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. एस. के. बंदोपाध्याय
सदस्य, एएसआरबी, नई दिल्ली
(10 सितंबर 2014 से प्रभावी)

प्रो. पी. रेड्डन्ना
निदेशक, एनआईएबी
(30 सितंबर 2014 तक)

डॉ. ज गौरीशंकर
प्रभारी निदेशक, एनआईएबी
(01 अक्टूबर 2014 से प्रभावी)

एनआईएबी वित्त समिति

10 सितंबर 2014 तक

डॉ. के. विजय राघवन
सचिव, डीबीटी, नई दिल्ली
अध्यक्ष

सुश्री अनुराधा मित्रा
संयुक्त सचिव और वित्तीय सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली
(14 दिसंबर 2014 तक)

डॉ. ए एस निनावे
सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली

डॉ. ज गौरीशंकर
निदेशक, सीडीएफडी

डॉ. दुर्गादास कस्बेकर
सीडीएफडी, हैदराबाद

प्रो. रामकृष्णा रामास्वामी
कुलपति, हैदराबाद विश्वविद्यालय, हैदराबाद

डॉ. एच के प्रधान,
डब्ल्यूएचओ, नई दिल्ली

डॉ. के. टी. सम्पत, पूर्व निदेशक,
एनआईएएनपी, बेंगलोर

प्रो. पी. रेड्डन्ना
निदेशक, एनआईएबी
सदस्य सचिव
(30 सितंबर 2014 तक)

पुनः गठित 11 सितंबर 2014 से प्रभावी

डॉ. के. विजय राघवन
सचिव, डीबीटी, नई दिल्ली
अध्यक्ष

श्री जे बी महापात्रा
संयुक्त सचिव और वित्तीय सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली
(15 दिसंबर 2014 से प्रभावी)

डॉ. ए एस निनावे
सलाहकार, डीबीटी, नई दिल्ली

डॉ. ज गौरीशंकर
निदेशक, सीडीएफडी

डॉ. दुर्गादास कस्बेकर
सीडीएफडी, हैदराबाद

प्रो. रामकृष्णा रामास्वामी
कुलपति, हैदराबाद विश्वविद्यालय, हैदराबाद

डॉ. ए. के. श्रीवास्वत
एनडीआरआई, करनाल

डॉ. (सुश्री) अनुराधा आचार्य
ओसीमम बायो सोलूशन्स, हैदराबाद

डॉ. ज गौरीशंकर
प्रभारी निदेशक, एनआईएबी
सदस्य सचिव
(01 अक्टूबर 2014 से प्रभावी)

वैज्ञानिक सलाहकार समिति

08 दिसंबर 2014 तक

डॉ. लालजी सिंह
पूर्व निदेशक, सीसीएमबी और पूर्व –कुलपति, बीएचयू,
अध्यक्ष

डॉ. अरुण निनावे
सलाहकार, डीबीटी, भारत सरकार

डॉ. के. एम. एल. पाठक
उप महा निदेशक (पशु विज्ञान),
पशु विज्ञान प्रभाग, आईसीएआर, नई दिल्ली

प्रो. डेविड हुमे
निदेशक,
रोसलिन इंस्टीट्यूट एंड रिसर्च

डॉ. आर. के. सिंह, निदेशक
राष्ट्रीय अश्वीय अनुसंधान केन्द्र

डॉ. एन. आर. हेगडे
समूह लीडर, इल्ला फाउंडेशन

डॉ. वी. ए. श्रीनिवास
सलाहकार, एनडीडीबी, हैदराबाद

प्रो. जगन पोंगुबाला
पशु विज्ञान विभाग
स्कूल ऑफ लाइफ साइंसेज,
हैदराबाद विश्वविद्यालय

प्रो. सी. चन्ना रेड्डी
विशिष्ट प्रोफेसर
पशु चिकित्सा और जैव चिकित्सा विज्ञान विभाग,
पेन्न स्टेट यूनिवर्सिटी

प्रो. पी. रेड्डन्ना
निदेशक, एनआईएबी
(30 सितंबर 2014 तक)
सदस्य सचिव

पुनः गठित 09 दिसंबर 2014 से प्रभावी

डॉ. लालजी सिंह
पूर्व निदेशक, सीसीएमबी और पूर्व –कुलपति, बीएचयू,
अध्यक्ष

डॉ. अरुण निनावे
सलाहकार, डीबीटी, भारत सरकार

डॉ. के. एम. एल. पाठक
उप महा निदेशक (पशु विज्ञान),
पशु विज्ञान प्रभाग, आईसीएआर, नई दिल्ली

प्रो. लोथर वेलियर
इंस्टीट्यूट फूर माइक्रोबायोलॉजी एंड टाइरेसुचेन, बर्लिन,
जर्मनी

प्रो. एस. रामास्वामी
सी–कैम्प, बैंगलोर

डॉ. सुबीर मजुमदार
एनआईआई, नई दिल्ली

डॉ. एस. एन. सिंह
बायोवेट, बैंगलोर

प्रो. आर. मेधामूर्ति
आईआईएससी, बैंगलोर

श्री. दीपक कपूर
इंडोवेक्स, गुड़गांव

प्रो. जी धींकर राज
टीएएनयूवीएएस, चेन्नई

डॉ. ज गौरीशंकर
प्रभारी निदेशक, एनआईएबी
(01 अक्टूबर 2014 से प्रभावी)
सदस्य सचिव

एनआईएबी भवन समिति

12 फरवरी 2015 तक

डॉ. ज गौरीशंकर
निदेशक, सीडीएफडी
अध्यक्ष

डॉ. ए. के. रावत
निदेशक, डीबीटी

श्री पी. सी. सिंह
उप सचिव, डीबीटी

श्री बी. एल. एन. रेड्डी
अधीक्षण अभियंता
एचएमडीए, हैदराबाद

श्री सिद्धार्थ रेड्डी
विश्वविद्यालय अभियंता
हैदराबाद विश्वविद्यालय

प्रो. पी रेड्डन्ना
निदेशक, एनआईएबी

श्री वी. एच. राव
वरिष्ठ परामर्श
(31 जुलाई 2014 तक)
सदस्य संयोजक

पुनः गठित 13 फरवरी 2015 से प्रभावी

डॉ. ज गौरीशंकर
निदेशक, सीडीएफडी
अध्यक्ष

डॉ. ए. के. रावत
निदेशक, डीबीटी

श्री पी. सी. सिंह
उप सचिव, डीबीटी

श्री बी. एल. एन. रेड्डी
अधीक्षण अभियंता
एचएमडीए, हैदराबाद

डॉ. जी. सुंदरराजन'
निदेशक, इंटरनेशनल एडवांस्ड रिसर्च सेंटर फॉर पाउडर मेटलर्जी एंड न्यू मैटिरियल्स (एआरसीआई), हैदराबाद

डॉ. ज गौरीशंकर
निदेशक प्रभारी, एनआईएबी

श्री एस. अयूब बाशा
स्टाफ वैज्ञानिक – 5 (अभियांत्रिकी), सीडीएफडी

श्री हरजीत सिंह
वरिष्ठ प्रबंधक, एनआईएबी
सदस्य संयोजक

*** डॉ. जी. सुंदरराजन, निदेशक, एआरसीआई भवन समिति की बैठक की अध्यक्षता करेंगे जब तक डॉ. ज गौरीशंकर एनआईएबी के प्रभारी निदेशक के रूप में कार्य कर रहे हैं।**

एनआईएबी कर्मचारी

वैज्ञानिक

1	प्रो. पी. रेड्डन्ना, पीएच.डी	निदेशक (30 सितंबर 2014 तक)
2	डॉ. ज गौरीशंकर, पीएच.डी	प्रभारी निदेशक (01 अक्टूबर 2014 से प्रभावी)
3	डॉ. सतीश कुमार, पीएच.डी	वैज्ञानिक – एच (20 नवंबर 2014 तक)
4	डॉ. गिरीश के राधाकृष्णन, पीएच.डी	वैज्ञानिक – डी
5	डॉ. माधुरी सुब्बैया, पीएच.डी	वैज्ञानिक – सी
6	डॉ. आनंद श्रीवास्तव, पीएच.डी	वैज्ञानिक – सी
7	डॉ. परेश शर्मा, पीएच.डी	वैज्ञानिक – सी
8	डॉ. सत्या वेलमुरुगन, पीएच.डी	वैज्ञानिक – सी
9	डॉ. सरवार आजाम	वैज्ञानिक – बी
10	प्रो. सत्या परिदा, पीएच.डी	अतिथि संकाय
11	डॉ. सैयद फैसल, पीएच.डी	रामालिंगास्वामी अध्येता
12	डॉ. अभिजीत देशमुख, पीएच.डी	इंस्पायर संकाय
13	डॉ. अपर्णा रचमालु, पीएच.डी	डीएसटी महिला वैज्ञानिक (01 अक्टूबर 2014 से प्रभावी)

तकनीकी

1	श्रीमती जी. रमादेवी	तकनीकी अधिकारी
2	श्री शशिकांत डी. गवाई	तकनीकी अधिकारी
3	श्री ए. हरिकृष्णा	तकनीकी अधिकारी
4	श्री प्रवीण कुमार पूसारला	तकनीकी अधिकारी

प्रशासनिक और सहायक स्टाफ

1	श्री हरजीत सिंह	वरिष्ठ प्रबंधक
2	श्री बी. जे. आचार्युल्लु	प्रभारी वित्त अधिकारी
3	श्री आई जगदीश	प्रबंधक कार्यालय (लेखा)
4	श्री संतोष नामदेव म्हाडेश्वर	प्रबंधक (भंडार और क्रय)
5	श्री रमेश बाबू, अभियंता	मरम्मत और रखरखाव अभियंता
6	सुश्री कृष्णा प्रिया	निदेशक की निजी सहायक
7	श्री मोहम्मद जहीरुद्दीन	कनिष्ठ कार्यालय सहायक
8	श्री पी. एस. जी. एस. पवन कुमार	कनिष्ठ कार्यालय सहायक
9	श्री रतनेश चंद्रा	कनिष्ठ कार्यालय सहायक
10	श्री डी. नागेश	कार्यालय परिचारक
11	श्री पी. रमेश	कार्यालय परिचारक
12	श्री ज़ाहीद हुसैन	ड्राइवर

परामर्शदाता

1	श्री वी. एच राव	वरिष्ठ परामर्शदाता (31 जुलाई 2014 तक)
2	श्री वी. लछिया	परामर्शदाता
3	श्री सी. एस. मूर्ति	परामर्शदाता (उपकरण)
4	डॉ. जॉर्ज जॉन	परामर्शदाता सलाहकार (10 सितंबर 2014)

तस्वीरें

एनआईएबी स्थल पर गणतंत्र दिवस समारोह

एनआईएबी ऑडिटोरियम में 24 सितंबर 2014 को सुश्री वर्षा श्रीवास्तव, स्टाफ वैज्ञानिक, सीडीएफडी, हैदराबाद द्वारा ''डीएनए फिंगरप्रिंटिंग'' पर हिंदी दिवस पर व्याख्यान।

भंडार और क्रय प्रबंधन प्रणाली (एसपीएमएस) सॉफ्टवेयर का शुभारंभ

संस्थान के कर्मचारियों, श्री संतोष नामदेव म्हाडेश्वर, प्रबंधक (भंडार और क्रय) और श्री ए. हरिकृष्णा, तकनीकी अधिकारी द्वारा भंडार क्रय प्रबंधन प्रणाली (एसपीएमएस) सॉफ्टवेयर विकसित किया गया था। सॉफ्टवेयर 20 मार्च 2015 को डॉ. ज गौरीशंकर, प्रभारी निदेशक, एनआईएबी द्वारा आरंभ किया गया था। सॉफ्टवेयर के घरेलू विकास के लिए निदेशक प्रभारी द्वारा कर्मचारियों को प्रशंसा पत्र दिए गए।

सफाई अभियान द्वारा 2 अक्टूबर 2014 को सभी अधिकारियों /
कर्मचारियों के लिए ''स्वच्छता शपथ'' (साफ – सफाई शपथ) दिलाई।

25 सितंबर 2014 को एनआईएबी में सुश्री अनुराधा मिश्रा, वित्तीय सलाहकार, विज्ञान एवं प्रौद्योगिकी मंत्रालय का दौरा।

तमिलनाडु कृषि विश्वविद्यालय बी. टेक (जैव प्रौद्योगिकी) और बी. टेक (जैव सूचना विज्ञान) छात्रों का 19 और 20 सितंबर 2014 को संस्थागत और औद्योगिक शिक्षण के भाग के रूप में एनआईएबी का दौरा

NIAB

National Institute of Animal Biotechnology

लेखापरीक्षक की रिपोर्ट

2014–15

लेखापरीक्षक की रिपोर्ट

निदेशक 28 अप्रैल 2015

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान

डी. नं. 1—121 / 1, चौथा और पांचवां तल, एक्सिस क्लिनिकल्स बिल्डिंग

मियापुर, हैदराबाद — 500 049

हमने राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान, हैदराबाद के 31 मार्च 2015 तक के संलग्न तुलन पत्र और उसी दिनांक को समाप्त वर्श के लिए संलग्न आय एवं व्यय लेखा की लेखापरीक्षा की है। ये वित्तीय विवरण संगठन प्रबंध की जिम्मेदारी है। हमारा उत्तरदायित्व हमारी लेखा परीक्षा के आधार पर इन वित्तीय विवरणों पर एक राय व्यक्त करना है।

हम रिपोर्ट करते हैं कि :

1. हमने सभी सूचना एवं स्पष्टीकरण प्राप्त किए हैं जो हमारी जानकारी एवं विश्वास के अनुसार, हमारी लेखापरीक्षा के प्रयोजन के लिए आवश्यक थे।
2. हमारी राय में, संगठन ने वर्तमान विधि द्वारा अपेक्षित लेखा बहियां रखी हैं जो कि हमारी बहियों की जांच से दिखाई देता है।
3. इस रिपोर्ट से संबंध रखने वाला तुलन पत्र तथा आय एवं व्यय लेखा बहियों के साथ सहमति में है।
4. संस्थान ने नकद के आधार पर लेखाओं का रखरखाव किया है।
5. हमारी राय में और हमारी सूचना एवं हमें दिए गए स्पष्टीकरणों के अनुसार उक्त तुलन पत्र तथा आय एवं व्यय लेखा उसके ऊपर दी गई टिप्पणी के साथ मिलाकर पढ़ने पर यथा अपेक्षित तरीके में आवश्यक सूचना देता है और एक सत्य एवं निष्पक्ष चित्र प्रस्तुत करता है।
   क) अब तक यह 31 मार्च 2015 के तुलन पत्र से संबंधित है और
   ख) अब तक यह 31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए व्यय से अधिक आय के आय और व्यय खाते की अतिरिक्त राशि से संबंधित है।

बी पुरूषोत्तम एंड कंपनी के लिए
सनदी लेखाकार
पंजी. सं. 002808एस

स्थान : हैदराबाद
तिथि : 28 अप्रैल, 2015

(च. सत्यनारायण)
भागीदार सदस्यता सं. 019092

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान, हैदराबाद
31 मार्च 2015 का तुलन पत्र

(राशि – रु.)

विवरण	अनुसूची	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
समग्र / पूंजी निधि एवं देनदारियां			
समग्र / पूंजी निधि	1	36,88,87,939.00	29,03,40,484.00
आरक्षितियां एवं अधिशेष	2	1,85,10,505.52	23,32,293.22
उद्दिष्ट / अक्षय निधियां	3	21,28,855.00	20,04,546.00
सुरक्षित ऋण एवं उधार	4	-	-
असुरक्षित ऋण एवं उधार	5	-	-
अस्थगित जमा देनदारियां	6	-	-
चालू देनदारियां एवं प्रावधान	7	16,68,356.00	23,29,514.00
योग		39,11,95,655.52	29,70,06,837.22
आस्तियां			
अचल आस्तियां	8	36,04,34,175.00	27,80,78,152.00
निवेश – उद्दिष्ट / अक्षय निधियों से	9	-	-
निवेश – अन्य	10	-	-
चालू आस्तियां, ऋण, अग्रिम इत्यादि	11	3,07,61,480.52	1,89,28,685.22
विविध व्यय		-	-
योग		39,11,95,655.52	29,70,06,837.22
महत्वपूर्ण लेखाकरण नीतियां	24		
आकस्मिक देनदारियां एवं लेखा पर टिप्पणियां	25		

बी पुरूषोत्तम एंड कंपनी के लिए
सनदी लेखाकार
पंजी. सं. 002808एस

निदेशक **एनआईएबी**	**(च. सत्यनारायण)** **भागीदार सदस्यता सं. 019092**	**वित्त अधिकारी** **एनआईएबी**	**प्रबंधक कार्यालय (लेखा)** **एनआईएबी**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान, हैदराबाद
31 मार्च 2015 के आय और व्यय का विवरण

(राशि – रु.)

विवरण	अनुसूची	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
आय					
बिक्री / सेवाओं से आय	12		-		-
अनुदान / इमदाद	13		9,50,00,000.00		6,00,00,000.00
सुल्क / अंशदान	14		-		-
निवेशों से आय	15		44,82,171.00		23,30,055.00
स्वामित्व, प्रकाशन इत्यादि से आय	16		-		-
अर्जित ब्याज	17		-		18,32,327.00
अन्य आय	18		5,19,610.00		4,38,584.00
तैयार माल के स्टॉक और चालू – कार्य में बढ़ोत्तरी / (कमी)	19		-		-
योग (क)			**10,00 ,01,781.00**		**6,46,00,966.00**
व्यय					
स्थापना व्यय	20		2,19,03,120.00		1,72,98,727.00
प्रशासनिक व्यय	21		6,18,92,358.70		4,88,08,751.00
अनुदान, इमदाद इत्यादि पर व्यय	22		-		-
ब्याज	23		-		-
मूल्यह्रास (वर्षान्त पर निवल योग – अनुसूची 8 के अनुरूप)		2,14,68,449.00		1,07,92,541.00	
घटाएं : सहायता अनुदान में अंतरण		2,14,68,449.00	-	1,07,92,541.00	
वेतनों और अन्य व्यय के लिए प्रावधान			28,090.00		5,56,759.00
योग (ख)			**8,38,23,568.70**		**6,66,64,237.00**
व्यय से अधिक आय के अतिरिक्त होने के कारण शेष (ख–क)			1,61,78,212.30		(-)20,63,271.00
विशेष आरक्षित का अंतरण (प्रत्येक को निर्दिष्ट करें)					
सामान्य आरक्षित को / से अंतरण					
अधिशेष / (घाटा) होने के कारण समग्र / पूंजी निधि का शेष					
महत्वपूर्ण लेखाकरण नीतियां	24				
आकस्मिक देनदारियां एवं लेखा पर टिप्पणियां	25				

बी पुरूषोत्तम एंड कंपनी के लिए
सनदी लेखाकार
पंजी. सं. 002808एस

निदेशक **एनआईएबी**	**(च. सत्यनारायण)** **भागीदार सदस्यता सं. 019092**	**वित्त अधिकारी** **एनआईएबी**	**प्रबंधक कार्यालय (लेखा)** **एनआईएबी**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान, हैदराबाद
31 मार्च 2015 को समाप्त होने वाले वर्ष का प्राप्तियां व भुगतान लेखा

(राशि – रु.)

प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष	भुगतान	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
1. आदि शेष			1. व्यय		
क) रोकड शेष			क) स्थापना व्यय (अनुसूची 20 के अनुरूप)	2,19,03,120.00	1,72,98,727.00
ख) बैंक शेष			ख) प्रशासनिक व्यय (अनुसूची 21 के अनुरूप)	6,18,92,358.70	4,88,08,751.00
i) चालू खाते में	-	-		-	-
ii) जमा खाते में	-	-			
iii) बचत खाते	20,32,060.22	49,53,618.22			
2. प्राप्त अनुदान			2. विभिन्न परियोजनाओं हेतु निधियों के लिए किए गए भुगतान		
क) भारत सरकार से	19,50,00,000.00	18,00,00,000.00	(निधि या परियोजना का नाम जिसे प्रत्येक परियोजना के लिए		
ख) राज्य सरकार से			किए गए भुगतानों के विवरण के साथ दर्शाया गया है)		
ग) अन्य स्रोतों (विवरणों) से			परियोजनाएं (अनुलग्नक च)	58,09,718.00	5,27,972.00
(पूंजीगत और राजस्व के अनुदान					
अगले से दर्शाए गए हैं)			3. किए गए निवेश व जमा		
			क) उद्दिष्ट/अक्षय निधियों से		
घ) परियोजनाएं (अनुलग्नक – ग)	59,34,027.00	19,00,000.00	ख) निजी निधियों से (निवेश – अन्य)	17,50,00,000.00	19,00,00,000.00
3. निवेश पर आय			4. अचल आस्तियां और चालू पूंजीगत कार्य पर व्यय		
क) उद्दिष्ट / अक्षय निधियां			क) अचल आस्तियों की खरीद :		
ख) निजी निधियां (अन्य निवेश)	40,36,516.00	16,92,798.00	पुस्तकें एवं जर्नल	84,680.00	4,97,459.00
ग) नकद कराए गए निवेश	17,50,00,000.00	19,00,00,000.00	उपस्कर – प्रयोगशाला / कार्यालय / फर्नीचर	2,37,27,888.00	12,67,49,747.00
			ख) चालू पूंजीगत कार्य पर व्यय	7,99,96,000.00	7,35,35,430.00
4. प्राप्त ब्याज					
क) बैंक जमाओं पर	4,45,655.00	6,37,257.00	5. अतिरिक्त राशि / ऋणों की वापसी		
ख) ऋण, अग्रिम आदि	-	-	क) भारत सरकार को	-	-
ग) एलसी पर ब्याज	-	18,32,327.00	ख) राज्य सरकार को	-	-
			ग) अन्य निधि दाताओं को	-	-
5. अन्य आय (बताएं)					
क) विश्लेषण प्रभार	-	-	6. वित्त प्रभार (ब्याज)	-	-
6. उधार ली गई राशि	-	-			
7. कोई अन्य प्राप्तियां (विवरण दें)			7. अन्य भुगतान (निर्दिष्ट करें)		
I–प्रेषण (अनुलग्नक – क)	40,20,024.00	24,32,522.00	अग्रिम (अनुलग्नक – घ)	3,32,44,101.00	2,25,53,041.00
			I–प्रेषण (अनुलग्नक – ङ)	40,20,024.00	24,32,522.00
सीपीएफ–अंशदान/जीपीएफ,			सीपीएफ खाता / जीपीएफ खाता	6,01,000.00	4,74,000.00
बकाया एवं अग्रिम वापसी	6,01,000.00	4,74,000.00	नई पेंशन योजना	7,73,558.00	6,02,500.00
विविध प्राप्तियां	85,110.00	1,65,084.00			
आवेदन शुल्क	1,39,500.00	2,73,500.00			
भविष्य निधि रक्षित	-	-	8. अंत शेष		
निःशुल्क उपहार – दान	-	-	क) रोकड़ शेष	-	-
निविदा प्रपत्रों की बिक्री	2,95,000.00	-	ख) बैंक शेष		
अवकाश वेतन – पेंशन अंशदान	-	-	i) चालू खाते में	-	-
लाइसेंस शुल्क	-	-	ii) जमा खाते में	-	-
कल्याण कोष	-	-	iii) बचत खाते	32,27,520.52	20,32,060.22
नई पेंशन योजना	7,73,558.00	6,02,500.00			
अग्रिम/निधियां/वासूली/समा.(अनुलग्नक–ख)	2,19,17,518.00	10,05,48,603.00			
योग	**41,02,79,968.22**	**48,55,12,209.22**	**योग**	**41,02,79,968.22**	**48,55,12,209.22**

बी पुरूषोत्तम एंड कंपनी के लिए
सनदी लेखाकार
पंजी. सं. 002808एस

निदेशक एनआईएबी	(व. सत्यनारायण) भागीदार सदस्यता सं. 019092	वित्त अधिकारी एनआईएबी	प्रबंधक कार्यालय (लेखा) एनआईएबी

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
अनुसूची 1 – समग्र / पूंजी निधि :				
वर्ष के प्रारंभ में शेष		29,03,40,484.00		18,11,03,125.00
जोड़े : समग्र / पूंजी निधि के लिए अंशदान				
एनआईएबी कोर – योजना (अनावर्ती)	10,00,00,000.00		12,00,00,000.00	
परियोजनाओं के पूंजी व्यय का पूंजीकृत भाग	15,903.00		29,900.00	
अन्य (आंध्र प्रदेश ने निःशुल्क 100 एकड़ भूमि आबंटित की)	1.00	10,00,15,904.00		12,00,29,900.00
घटाएं : एकमुश्त मूल्यह्रास				
घटाएं : वर्ष 2014–2015 के लिए मूल्यह्रास	2,14,68,449.00	2,14,68,449.00	1,07,92,541.00	1,07,92,541.00
जोड़े : आय और व्यय खाते से				
निवल आय / (व्यय) अंतरण का शेष				
वर्षान्त पर शेष		**36,88,87,939.00**		**29,03,40,484.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
अनुसूची 2 – आरक्षित व अधिशेष :				
1. पूंजी आरक्षित :				
पिछले लेखा के अनुसार	-		-	
वर्ष के दौरान जोड़	-		-	
घटाएं : वर्ष के दौरान कटौतियां	-	-	-	-
2. पुनः मूल्यांकन आरक्षित :				
पिछले लेखा के अनुसार	-		-	
वर्ष के दौरान जोड़	-		-	
घटाएं : वर्ष के दौरान कटौतियां	-	-	-	-
3. विशेष आरक्षित :				
पिछले लेखा के अनुसार	-		-	
वर्ष के दौरान जोड़	-		-	
घटाएं : वर्ष के दौरान कटौतियां	-	-	-	-
4. सामान्य आरक्षित				
पिछले लेखा के अनुसार	23,32,293.22		43,95,564.22	
वर्ष के दौरान जोड़	1,61,78,212.30	-	-20,63,271.00	-
घटाएं : वर्ष के दौरान कटौतियां	-	1,85,10,505.52	-	23,32,293.22
योग		**1,85,10,505.52**		**23,32,293.22**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
अनुसूची 3 – उद्दिष्ट / अक्षय निधियां :				
(अनुलग्नक देखें)				
(क) निधियों का आदि शेष		20,04,546.00		6,32,518.00
(ख) निधियों में जोड़ :				
i. दान / अनुदान	59,34,027.00		19,00,000.00	
ii. निधियों के कारण किए गए निवेशों से आय	-		-	
iii. अन्य जोड़	-	59,34,027.00	-	19,00,000.00
योग (क+ख)		**79,38,573.00**		**25,32,518.00**
(ग) निधियों के उद्देश्य की ओर उपयोगिता / व्यय				
(i) पूंजी व्यय (अनुलग्नक I एवं II देखें)				
– अचल आस्तियां	15,903.00		29,900.00	
– अन्य		15,903.00	-	29,900.00
– योग				
(ii) राजस्व व्यय (अनुलग्नक I एवं II देखें)				
– वेतन, मजदूरियां व भत्ते इत्यादि				
– किराया	-		-	
– अन्य व्यय	57,93,815.00	57,93,815.00	4,98,072.00	4,98,072.00
योग				
योग (ग)		**58,09,718.00**		**5,27,972.00**
वर्ष के अंत पर निवल शेष (क + ख) – ग)		**21,28,855.00**		**20,04,546.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
अनुसूची 4 – प्रतिभूति ऋण और उधार :				
1. केंद्र सरकार		-		-
2. राज्य सरकार (निर्दिष्ट करें)		-		-
3. वित्तीय संस्थाएं				
क) आवधिक ऋण	-		-	
ख) प्रोद्भूत और देय ब्याज	-	-	-	-
4. बैंक :				
क) आवधिक ऋण	-	-	-	-
– प्रोद्भूत और देय ब्याज	-		-	
ख) अन्य ऋण	-		-	
– प्रोद्भूत और देय ब्याज	-	-	-	-
5. अन्य संस्थाएं और एजेंसियां		-		-
6. ऋण पत्र और बंध पत्र		-		-
7. अन्य (निर्दिष्ट करें)		-		-
योग			-	-
छवजमरू ।उवनदज कनम ूपजीपद वदम लमंत				

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
अनुसूची 5 – आरक्षित ऋण और उधार :				
1. केंद्र सरकार		-		-
2. राज्य सरकार (निर्दिष्ट करें)		-		-
3. वित्तीय संस्थाएं		-		-
4. बैंक :				
क) आवधिक ऋण	-		-	
ख) अन्य ऋण	-	-	-	-
5. अन्य संस्थाएं और एजेंसियां		-		-
6. ऋण पत्र और बंध पत्र		-		-
7. सावधि जमा		-		-
8. अन्य (निर्दिष्ट करें)		-		-
योग			-	-
टिप्पणी : एक वर्ष में देय राशि				

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
अनुसूची 6 – आस्थगित जमा देनदारियां :				
क) पूंजी उपकरण एवं अन्य आस्तियों के मालबंधन द्वारा प्राप्त स्वीकृतियां	-		-	
ख) अन्य		-		-
योग		-		-
टिप्पणी : एक वर्ष में देय राशि				

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
अनुसूची 7 – चालू देनदारियां और प्रावधान :				
क. चालू देनदारियां				
1. स्वीकृतियां	-		-	
2. विविध लेनदार	-		-	
3. प्राप्त अग्रिम	-		-	
4. ब्याज प्रोद्भूत किंतु देय नहीं	-		-	
5. सांवधिक देनदारियां :	-		-	
6. अन्य चालू देनदारियां				
एनआईएबी सीपी निधि खाता	-		-	
धरोहर राशि	-		6,42,500.00	
प्रतिभूति जमा	90,808.00	90,808.00	1,37,556.00	7,80,056.00
योग (क)		**90,808.00**		**7,80,056.00**
ख. प्रावधान				
1. कराधान के लिए	-		-	
2. उपदान	-		-	
3. अधिवर्षिता / पेंशन	-		-	
4. संचित अवकाश नकदीकरण	-		-	
5. व्यापार वारंटी / दावा	-		-	
6. अन्य (निर्दिष्ट करें)	15,77,548.00	15,77,548.00	15,49,458.00	15,49,458.00
योग (ख)		**15,77,548.00**		**15,49,458.00**
योग (क+ख)		**16,68,356.00**		**23,29,514.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

अनुसूची 8 – अचल आस्तियां :	सकल ब्लॉक				मूल्यह्रास				निवल ब्लॉक	
विवरण	वर्ष के आरंभ में लागत/मूल्यांकन	वर्ष के दौरान जोड़	वर्ष के दौरान कटौतियां	वर्ष के अंत पर लागत/मूल्यांकन	वर्ष के आरंभ में	वर्ष के दौरान जोड़ पर	वर्ष के दौरान कटौतियों पर	वर्ष के अंत तक योग	वर्तमान वर्ष के अंत तक	पिछले वर्ष के अंत तक
क. अचल आस्तियां										
1. भूमि :										
क) पूर्ण स्वामित्व पर	-	1.00	-	1.00	-	-	-	-	1.00	-
ख) पट्टे पर	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. भवन										
क) पूर्ण स्वामित्व भूमि पर	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ख) पट्टे पर भूमि	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ग) स्वामित्व फ्लैट्स / परिसर	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
घ) भूमि के ऊपर ढांचे संस्था के नहीं हैं	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. संयंत्र मशीनरी व उपकरण	12,60,83,059.00	2,25,26,558.00	-	14,86,09,617.00	1,05,18,670.00	1,99,89,552.00	-	3,05,08,222.00	11,81,01,395.00	11,55,64,389.00
4. वाहन	22,40,610.00	-	-	22,40,610.00	6,35,523.00	2,40,763.00	-	8,76,286.00	13,64,324.00	16,05,087.00
5. फर्नीचर, फिक्चर	2,93,623.00	6,756.00	-	3,00,379.00	43,864.00	25,652.00	-	69,516.00	2,30,863.00	2,49,759.00
6. कार्यालय उपस्कर	29,58,845.0	2,17,600.00	-	31,76,445.00	3,50,156.00	4,14,224.00	-	7,64,380.00	24,12,065.00	26,08,689.00
7. कंप्यूटर / सहायक उपकरण	4,95,793.00	7,95,909.00	-	12,91,702.00	2,97,476.00	3,72,931.00	-	6,70,407.00	6,21,295.00	1,98,317.00
8. विद्युत संस्थापन	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. ग्रंथालय पुस्तकें	4,97,459.00	84,680.00	-	5,82,139.00	2,50,986.00	2,96,936.00	-	5,47,922.00	34,217.00	2,46,473.00
10. नलकूप व जल आपूर्ति	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11. अन्य अचल आस्तियां	4,28,605.00	1,96,968.00	-	6,25,573.00	60,223.00	1,28,391.00	-	1,88,614.00	4,36,959.00	3,68,382.00
योग	13,29,97,994.00	2,38,28,472.00	-	15,68,26,466.00	1,21,56,898.00	2,14,68,449.00	-	3,36,25,347.00	12,32,01,119.00	12,08,41,096.00
ख. चालू पूंजीगत कार्य	**15,72,37,056.00**	**7,99,96,000.00**	-	**23,72,33,056.00**	-	-	-	-	**23,72,33,056.00**	**15,72,37,056.00**
योग	**29,02,35,050.00**	**10,38,24,472.00**	-	**39,40,59,522.00**	**1,21,56,898.00**	**2,14,68,449.00**	-	**3,36,25,347.00**	**36,04,34,175.00**	**27,80,78,152.00**

आंध्र प्रदेश की सरकार के द्वारा एन.आई.ए.बी के लिये, जी.ओ.एम.एस. क्रमांक 566 , दिनांक 13/09/2012 के जरिए, 306.822 करोड़ रूपये कीमत की 100 एकड़ जमीन, सर्वेश्रण संख्या ३७, ज़िला रंगारेड्डी, सेरीलिंगमपल्ली गोपनपल्ली गांव में निःशुल्क आवंटित की गई है!

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 9 : उद्दिष्ट / अक्षय निधियों से निवेश :		
1. सरकारी प्रतिभूतियों में	-	-
2. अन्य अनुमोदित प्रतिभूतियां	-	-
3. शेयर	-	-
4. ऋण पत्र एवं बंध प्त्र	-	-
5. सहायक कंपनियां और सुयंक्त उद्यम	-	-
6. अन्य (निर्दिष्ट करना है) – एसटीडीआर	-	-
योग	**-**	**-**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 10 : निवेश – अन्य :		
1. सरकारी प्रतिभूतियों में	-	-
2. अन्य अनुमोदित प्रतिभूतियां	-	-
3. शेयर	-	-
4. ऋण पत्र एवं बंध पत्र : यूआईटी बंध पत्र		
5. सहायक कंपनियां और सुयंक्त उद्यम	-	-
6. अन्य (निर्दिष्ट करना है)–एसटीडीआर, (सीपीएफ), एनआईएबी सीपी निधि खाता	-	-
योग	**-**	**-**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
अनुसूची 11 – निवेश – अन्य :				
क. वर्तमान आस्तियां:				
1. माल सूचियां :				
क) भंडार एवं पुर्जे	-		-	
ख) खुले उपकरण	-		-	
ग) विक्रेय				
तैयार माल	-		-	
प्रगतिशील कार्य	-		-	
कच्चा माल	-	-	-	-
2. विविध देनदार :				
क) छह महीने से अधिक के लिए बकाया ऋण			-	
ख) अन्य – आजीवन सदस्यता शुल्क		-	-	
3. हाथ में शेष नकद				
(चैक/ड्राफ्ट व अग्रदाय सहित)				
4. बैंक शेष :				
क) अनुसूचित बैंकों में :				
– चालू खातों पर	-		-	
– जमा खातों पर (आंशिक निधि सहित)	-		-	
– बचत खातों पर	32,27,520.52	32,27,520.52	20,32,060.22	20,32,060.22
ख) गैर – अनुसूचित बैंकों में				
– चालू खातों पर	-		-	
– जमा खातों पर	-		-	
– जमा खातों पर`	-	-	-	-
5. व्वेज वींपिबमैं.अपदहे ।बबवनदजे				
योग (क)		**32,27,520.52**		**20,32,060.22**
ख. ऋण, अग्रिम और अन्य आस्तियां				
1. ऋण				
क) स्टाफ	-		-	
ख) इकाई के समान गतिविधियों / उद्देश्यों में संलग्न अन्य इकाइयां	-	-	-	-
2. नकद या वस्तु रूप में या प्राप्त किए जाने वाले मूल्य के लिए वसूली योग्य अग्रिम और अन्य राशियां :				
क) पूंजी खाते पर (अनुलग्नक – ज)	67,93,456.00		1,05,80,000.00	
ख) पूर्व भुगतान – जमा (अनुलग्नक – झ)	2,07,40,504.00		63,16,625.00	
ग) अन्य	-	2,75,33,960.00	-	1,68,96,625.00
3. प्रोदभूत आय :				
क) उद्दिष्ट / अक्षय निधियों से निवेश पर				
ख) निवेश – अन्य पर	-		-	
ग) ऋण और अग्रिमों पर	-		-	
घ) अन्य	-	-	-	-
4. प्राप्ति योग्य दावे :	-		-	
योग (ख)		**2,75,33,960.00**		**1,68,96,625.00**
योग (क+ख)		**3,07,61,480.52**		**1,89,28,685.22**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 12 : बिक्री / सेवाओं से आय :		
1) बिक्री से आय		
क) तैयार माल की बिक्री	-	-
ख) कच्चे माल की बिक्री	-	-
ग) रद्दी माल की बिक्री	-	-
2) सेवाओं से आय		
क) श्रम और प्रसंस्करण शुल्क	-	-
ख) व्यावसायिक / परामर्श सेवाएं (विश्लेषण प्रभार)	-	-
ग) एजेंसी कमीशन और दलाली	-	-
घ) अनुरक्षण सेवाएं (उपस्कर / संपत्ति)	-	-
ङ) अन्य (निर्दिष्ट करें)	-	-
योग	**-**	**-**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 13 : अनुदान / सहायिकियां :		
(अप्रतिसंहरणीय अनुदान एवं प्राप्त सहायिकियां)		
1) केन्द्र सरकार (डीबीटी योजना सहायता अनुदान)	9,50,00,000.00	6,00,00,000.00
2) राज्य सरकार	-	-
3) सरकारी एजेंसियां	-	-
4) संस्थाएं / कल्याणकारी संस्थाएं	-	-
5) अंतरराष्ट्रीय संगठन	-	-
6) अन्य (निर्दिष्ट करें)	-	-
योग	**9,50,00,000.00**	**6,00,00,000.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 14 : शुल्क / अंशदान :		
1. प्रवेश शुल्क	-	-
2. वार्षिक शुल्क / अंशदान	-	-
3. संगोष्ठी / कार्यक्रम शुल्क	-	-
4. परामर्श शुल्क	-	-
5. अन्य (निर्दिष्ट करें)	-	-
योग -		**-**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष		पिछले वर्ष	
अनुसूची 15 – निवेश से आय :				
(निधियों में अंतरित उद्दिष्ट /				
अक्षय निधियों से निवेश पर आय)				
1) ब्याज :				
क) सरकारी प्रतिभूतियों पर	-		-	
ख) अन्य बंधपत्र / ऋण पत्र	-	-	-	-
2) लाभांश :				
क) शेयरों पर	-	-	-	-
ख) म्युचुअल फंड प्रतिभूतियों पर	-	-	-	-
3) किराया	-	-	-	-
4) अन्य (निर्दिष्ट करें) एसटीडीआर	44,82,171.00		23,30,055.00	-
योग	**44,82,171.00**	-	**23,30,055.00**	**-**
उद्दिष्ट / अक्षय निधियां को अंतरित				

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 16 : रॉयल्टी, प्रकाशन इत्यादि से आय :		
1) रॉयल्टी से आय	-	-
2) प्रकाशनों से आय	-	-
3) अन्य (निर्दिष्ट करें)	-	-
योग	**-**	**-**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 17 : अर्जित ब्याज :		
1) आवधिक जमाओं पर		
क) अनुसूचित बैंकों से	-	18,32,327.00
ख) गैर – अनुसूचित बैंकों से	-	-
ग) संस्थाओं से	-	-
घ) अन्य	-	-
2) बचत खातों पर		
क) अनुसूचित बैंकों से	-	-
ख) गैर – अनुसूचित बैंकों से	-	-
ग) संस्थाओं से	-	-
घ) अन्य	-	-
3) ऋणों पर		
क) कर्मचारी / स्टाफ	-	-
ख) अन्य	-	-
4) देनदारों और अन्य प्राप्य राशियों पर ब्याज	-	-
योग	**-**	**18,32,327.00**
टिप्पणी : स्रोत पर कर की कटौती दशाई जाए		

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 18 : अन्य आय :		
1) आस्तियों की बिक्री / निपटान पर लाभ :	-	-
क) निजी आस्तियां	-	-
ख) अनुदान से ली या मुफ्त प्राप्त हुई आस्तियां	-	-
2) निर्यात प्रोत्साहन अर्जित	-	-
3) विविध सेवाओं के लिए शुल्क	-	-
4) विविध प्राप्तियां	73,003.00	26,997.00
5) अन्य प्राप्तियां		
विविध प्राप्तियां	12,107.00	1,38,087.00
आवेदन शुल्क	1,39,500.00	2,73,500.00
निविदा प्रपत्रों की बिक्री	2,95,000.00	-
लाइसेंस शुल्क	-	-
कंप्यूटर अग्रिम, वाहन अग्रिम और एचबीए पर ब्याज	-	-
अवकाश वेतन – पेंशन अंशदान	-	-
भविष्य निधि रक्षित	-	-
शुल्क उपहार – दान	-	-
योग	**5,19,610.00**	**4,38,584.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 19 : तैयार माल और प्रगतिशील कार्य के स्टॉक में वृद्धि / (कमी) :		
क) अंतिम माल		
– तैयार माल	-	-
– प्रगतिशील कार्य	-	-
योग (क)	-	-
ख) घटाएं : आदि स्टॉक		
– तैयार माल	-	-
– प्रगतिशील कार्य	-	-
योग (ख)	-	-
शुद्ध वृद्धि / (कमी) (क–ख)	-	-

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 20 : स्थापना व्यय :		
क) वेतन और मजदूरियां	1,21,58,217.00	94,77,514.00
ख) भत्ते और बोनस	87,71,625.00	71,04,689.00
ग) भविष्य निधि में अंशदान	-	-
घ) अन्य निधि में अंशदान (एनपीएस)	7,73,558.00	6,02,500.00
ङ) स्टाफ कल्याण व्यय – चिकित्सा प्रभार	1,99,720.00	1,14,024.00
च) कर्मचारियों की सेवानिवृत्ति और सेवांत हितलाभों पर व्यय	-	-
छ) अन्य (निर्दिष्ट करें) – स्टाफ गृह किराया	-	-
योग	**2,19,03,120.00**	**1,72,98,727.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 21 : अन्य प्रशासनिक व्यय :		
क) क्रय	1,42,32,828.00	1,64,84,227.00
ख) बिजली और विद्युत	83,33,182.00	86,173.00
ग) जल प्रभार	2,23,429.00	32,669.00
घ) बीमा	47,744.00	93,412.00
ङ) मरम्मत और रखरखाव	2,13,154.00	11,17,656.00
च) किराया, मूल्य और कर	2,22,66,461.00	94,27,941.00
छ) वाहन चालन और रखरखाव	2,64,461.00	2,06,387.00
ज) डाक, टेलीफोन और संचार प्रभार	3,50,801.00	2,92,403.00
झ) मुद्रण और लेखन सामग्री	6,06,742.00	7,61,935.00
ञ) यात्रा और वाहन व्यय	28,74,025.00	45,90,802.00
ट) सम्मेलन / कार्यशालाओं पर व्यय	4,000.00	3,90,186.00
ठ) अंशदान व्यय	4,000.00	17,917.00
ड) शुल्क पर व्यय	-	2,500.00
ढ) लेखा परीक्षक पारिश्रामिक	28,090.00	28,090.00
ण) आतिथ्य व्यय	97,335.00	2,21,714.00
त) व्यावसायिक प्रभार	-	2,000.00
थ) विज्ञापन और प्रचार प्रसार	8,50,302.00	2,78,057.00
द) बैंक प्रभार	2,896.70	54,841.00
ध) सुरक्षा और सफाई संविदा प्रभार	52,13,050.00	26,55,657.00
न) प्रशिक्षण पाठ्यक्रम / संगोष्ठी	-	-
प) अन्य आकस्मिकताएं	5,78,645.00	16,04,137.00
प) वर्दी और कम्बल	-	-
फ) अन्य अनुसंधान व्यय	57,01,213.00	1,04,57,028.00
ब) कार्यालय पुस्तकें	-	3,019.00
योग	**6,18,92,358.70**	**4,88,08,751.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 22 : अनुदानों, सहायिकियों आदि पर व्यय :		
क) संस्थानों / संगठनों को दिए जाने वाले अनुदान	-	-
ख) संस्थानों / संगठनों को दिए जाने वाले सहायिकियां	-	-
योग	**-**	**-**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 के अनुसार तुलन पत्र का भाग बनाने वाली अनुसूची

(राशि – रु.)

विवरण	वर्तमान वर्ष	पिछले वर्ष
अनुसूची 23 : ब्याज :		
क) स्थायी ऋण पर	-	-
ख) अन्य ऋण पर (बैंक प्रभार सहित)	-	-
ग) अन्य	-	-
योग	**-**	**-**

अनुसूची 24 : महत्वपूर्ण लेखाकरण नीतियां एवं अनुसूची 25 : आकस्मिक देनदारियां और 31.03.2015 को समाप्त अवधि के लिए लेखा पर टिप्पणियां

1. **लेखाकरण की विधि :**
क.संगठन द्वारा अपनाई गई लेखाकरण प्रणाली ''उपचय आधार'' पर है।
ख.संगठन ''अनावर्ती'' एवं ''आवर्ती'' शीर्शों के अंतर्गत योजना सहायता अनुदान मिल रहा है।

2. **राजस्व अभिज्ञान :**
आय में सहायता अनुदान, सेवाओं और अल्प अवधि जमाओं से आने वाले ब्याज के जरिए आंतरिक स्रोत शामिल हैं। आय से प्राप्त नकद / डीडी / चेक / जमा पत्रों के आधार पर लेखीकरण किया गया।

3. **अचल आस्तियां :**
क. अचल आस्तियों को लागत पर बताया गया है। लागत में भाड़ा, शुल्क और कर आदि शामिल हैं।

ख. मूल्यह्रास : संस्थान की वित्त समिति की सिफारिश और शासी निकाय के अनुमोदन पर अचल आस्तियों के मूल्यह्रास खातों पर मूल्यह्रास के बट्टे खाते मूल्य विधि पर आयकर अधिनियम, 1961 में निर्दिश्ट संबंधित अचल आस्तियों की प्रचलित दर पर तैयार किया गया है। इसे संबंधित खाते में सहायता अनुदान (अनावर्ती) के खिलाफ दर्शाया गया है।

ग.चालू पूंजीगत कार्य को भुगतान किए गए अंतिम चालू लेखा बिलों तक दर्ज किया गया।

घ. अप्रचलित / अधिशेश अचल आस्तियों, जो कि अनुसंधान गतिविधियों के लिए आवश्यक नहीं हैं, कि बिक्री पर पाई गई उगाही को पूंजीगत लागत के प्रति समायोजित किया गया।

4. **वस्तु सूचियां :**
रसायन, कांच की बनी वस्तुओं और अन्य उपभोज्य वस्तुओं के सभी क्रय के समय पर खपत के प्रति प्रभारित किए गए।

5. **विदेशी मुद्रा लेन–देन :**
विदेशी मुद्रा लेन – देन बहियों में लेन–देन की तिथि पर प्रचलित विनियम दरों पर अभिज्ञात किए गए।

6. **निवेश :**
एसटीडीआर में जो निवेश हैं उन्हें बही मूल्य पर बताया गया है।

7. **अग्रिम :**
आपत्ति बही पंजी से यह देखा गया है कि उपभोज्यों एवं उपस्करों के लिए पूर्तिकर्ताओं को दिए गए अग्रिमों का समाधान किया जाना है और समायोजन प्रविश्टियों को लेखा बहियों में पारित किया जाना है।

8. **पिछले वर्ष के शेषों को, यथावश्यक पुनः समूहित / पुनः व्यवस्थित किया गया है।**

बी पुरूषोत्तम एंड कंपनी के लिए
सनदी लेखाकार
पंजी. सं. 002808एस

निदेशक,	**वित्त अधिकारी,ए**	**(च. सत्यनारायण)**
एनआईएबी	**एनआईएबी**	**भागीदार सदस्यता सं. 019092**

सीान : हैदराबाद
तिथि : 28 अप्रैल, 2015

लेखा टिप्पणियों पर स्पष्टीकरण : 2014–15

- **अलेखों पर टिप्पणियां 1 से 2 और 4 से 6 :** लेखाकरण की विधि / राजस्व अभिज्ञान / अचल आस्तियां / वस्तु सूचियां / विदेशी मुद्रा लेन–देन / निवेश : ये सभी केवल सूचनात्मक मद हैं।

- **अलेखा पर टिप्पणियां 3 :** अचल आस्तियां :
  मूल्यह्रास की गणना बट्टे खाते विधि पर आय कर अधिनियम 1961 में निर्दिश्ट संबंधित अचल आस्ति की प्रचलित दर और सहायता अनुदान (अनावर्ती) के विरूद्ध की गई है। अनुसूची – 8 में अचल आस्तियों पर मूल्यह्रास के विवरण वित्तीय विवरणों का अविभाज्य भाग हैं।

- **अलेखा पर टिप्पणियां 7 : अग्रिम :**
  लेखा परीक्षा के अवलोकन का उल्लेख किया गया है। आपत्ति बही पंजी का समाधान करने के लिए कार्रवाई आरंभ कर दी गई है।

वित्त अधिकारी, एनआईएबी

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2014 को समाप्त वर्ष के लिए
विभिन्न उद्दिष्ट / अक्षय निधियों (संदर्भ अनु. 3) के समापन शेष का विवरण

अनुलग्नक – I (राशि रु. में)

पिछले वर्ष	परि. सं.	विवरण	वर्तमान वर्ष
-	FS001	अध्येतावृत्ति	1,55,390.00
-	FS002	डीबीटी आरए	1,56,719.00
6,29,634.00	SP001	एनएमएमपी मॉडल नर्सरी	- 4,44,030.00
13,74,912.00	SP002	डीएसटी इनस्पायर सुविधा	24,594.00
-	SP003	रामालिंगास्वामी अध्येतावृत्ति	83,971.00
-	SP004	एनएमपीबी, आयूष विभाग, स्वास्थ्य और परिवार कल्याण मत्रालय, नई दिल्ली	8,42,715.00
-	SP005	डीएसटी महिला वैज्ञानिक योजना	3,09,496.00
-	SP006	एसईआरबी युवा वैज्ञानिक	10,00,000.00
20,04,546.00		**योग**	**21,28,855.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए अचल आस्तियां निधि
(परियोजना अनुदानों के पूंजीकृत भाग) का विवरण

अनुलग्नक – II (राशि रु. में)

पिछले वर्ष	परि. सं.	विवरण	वर्तमान वर्ष
29,900.00	SP002	डीएसटी इनस्पायर संकाय	-
-	SP003	रामालिंगास्वामी अध्येतावृत्ति	15,903.00
29,900.00		**योग**	**15,903.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए
अनुलग्नक : क प्राप्तियों और भुगतान खाते का अंश

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष	विवरण	वर्तमान वर्ष
	I–प्रेषण	
-	जीएसएलआई	1,080.00
9,48,420.00	आय कर	11,99,196.00
720.00	जीवन बीमा	-
35,800.00	व्यावसायिक कर	44,800.00
2,50,859.00	सेवा कर	4,38,390.00
11,69,885.00	टीडीएस	23,36,558.00
26,838.00	कार्य कर	-
24,32,522.00	**योग**	**40,20,024.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए
अनुलग्नक : ख प्राप्तियों और भुगतान खाते का अंश

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष	विवरण	वर्तमान वर्ष
	अग्रिम वापसी / वसूली / समायोजन	
91,265.00	एलटीसी (अग्रिम)	1,37,353.00
1,34,266.00	यात्रा भत्ता भारत और विदेश (अग्रिम)	1,61,399.00
-	टेलीफोन (अग्रिम)	5,000.00
-	परिवहन रखरखाव (अग्रिम)	20,000.00
-	विज्ञापन और प्रकाशन (अग्रिम)	26,365.00
52,563.00	बीमा (अग्रिम)	47,744.00
-	अन्य (आकस्मिकताएं अग्रिम)	1,00,000.00
-	अन्य (रखरखाव अग्रिम)	10,000.00
-	रसायन (अग्रिम)	56,275.00
-	उपभोज्य, कांच के बने पदार्थ और पुर्जे (अग्रिम)	16,573.00
-	अन्य (पशु गृह अग्रिम सहित)	14,607.00
-	अन्य अनुसंधान व्यय (अग्रिम)	1,11,107.00
9,38,92,447.00	उपकरण (अग्रिम)	1,31,23,734.00
9,83,003.00	वाहन (अग्रिम)	-
59,140.00	कार्यालय उपकरण (अग्रिम)	-
17,79,423.00	सामान्य जमा एवं अग्रिम	69,87,361.00
14,47,500.00	धरोहर राशि	-
90,808.00	प्रतिभूति जमा	-
5,00,000.00	कार्यशाला और सम्मेलन (अग्रिम)	-
15,18,188.00	जीडीए (अन्य)	11,00,000.00
10,05,48,603.00	**योग**	**2,19,17,518.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए
अनुलग्नक : ग प्राप्तियों और भुगतान खाते का अंश

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष	विवरण	वर्तमान वर्ष
	परियोजना – प्राप्तियां	
-	FS001	3,87,665.00
-	FS002	3,93,200.00
-	GAP001	1,24,162.00
-	SP001	-
19,00,000.00	SP002	-
-	SP003	21,09,000.00
-	SP004	11,00,000.00
-	SP005	8,20,000.00
-	SP006	10,00,000.00
19,00,000.00	योग	**59,34,027.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए
अनुलग्नक : घ प्राप्तियों और भुगतान खाते का अंश

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष	विवरण	वर्तमान वर्ष
	अग्रिम	
1,90,360.00	एलटीसी (अग्रिम)	1,59,617.00
1,37,398.00	यात्रा भत्ता भारत और विदेश (अग्रिम)	1,60,967.00
5,000.00	टेलीफोन (अग्रिम)	-
-	परिवहन रखरखाव (अग्रिम)	20,000.00
-	विज्ञापन और प्रकाशन (अग्रिम)	26,365.00
-	मुद्रण और लेखनःसामग्री (अग्रिम)	14,894.00
52,563.00	बीमा (अग्रिम)	47,744.00
-	अन्य (आकस्मिकताएं अग्रिम)	1,00,000.00
-	अन्य (रखरखाव अग्रिम)	10,000.00
-	रसायन (अग्रिम)	69,39,106.00
-	उपभोज्य, कांच के बने पदार्थ और पुर्जे (अग्रिम)	48,23,844.00
-	कंप्यूटर रखरखाव (अग्रिम)	15,000.00
-	अन्य (पशु गृह अग्रिम सहित)	14,607.00
-	अन्य अनुसंधान व्यय (अग्रिम)	1,16,107.00
1,16,54,814.00	उपकरण (अग्रिम)	85,74,232.00
-	मुख्य सॉफ्टवेयर (अग्रिम)	7,62,958.00
2,26,904.00	वाहन (अग्रिम)	-
59,140.00	कार्यालय उपकरण (अग्रिम)	-
19,41,505.00	सामान्य जमा एवं अग्रिम	79,94,058.00
8,10,000.00	धरोहर राशि	6,42,500.00
-	प्रतिभूति जमा	46,748.00
74,75,357.00	जीडीए (अन्य)	11,00,000.00
-	पूर्व भुगतान व्यय	16,75,354.00
2,25,53,041.00	**योग**	**3,32,44,101.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए
अनुलग्नक : ङ प्राप्तियों और भुगतान खाते का अंश

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष	विवरण	वर्तमान वर्ष
	I–प्रेषण	
-	जीएसएलआई	1,080.00
9,48,420.00	आय कर	11,99,196.00
720.00	जीवन बीमा	-
35,800.00	व्यावसायिक कर	44,800.00
2,50,859.00	सेवा कर	4,38,390.00
11,69,885.00	टीडीएस	23,36,558.00
26,838.00	कार्य कर	-
24,32,522.00	**योग**	**40,20,024.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए
अनुलग्नक : च प्राप्तियों और भुगतान खाते का अंश

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष	विवरण	वर्तमान वर्ष
	परियोजना – व्यय	
-	FS001	2,32,275.00
-	FS002	2,36,481.00
-	GAP001	1,24,162.00
2,884.00	SP001	10,73,664.00
5,25,088.00	SP002	13,50,318.00
-	SP003	20,25,029.00
-	SP004	2,57,285.00
-	SP005	5,10,504.00
5,27,972.00	**योग**	**58,09,718.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए
अनुलग्नक : छ तुलन पत्र का अंश

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष	विवरण	वर्तमान वर्ष
15,49,458.00	मार्च वेतन	15,49,458.00
-	लेखा परीक्षा शुल्क	28,090.00
15,49,458.00	**योग**	**15,77,548.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए
अनुलग्नक : ज तुलन पत्र का अंश

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष	विवरण	वर्तमान वर्ष
	ऋण एवं अग्रिम	
1,05,80,000.00	उपकरण (अग्रिम)	60,30,498.00
-	मुख्य सॉफ्टवेयर (अग्रिम)	7,62,958.00
1,05,80,000.00	**योग**	**67,93,456.00**

राष्ट्रीय पशु जैव प्रौद्योगिकी संस्थान
31 मार्च 2015 को समाप्त वर्ष के लिए
अनुलग्नक : झ तुलन पत्र का अंश

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष	विवरण	वर्तमान वर्ष
	पूर्व भुगतान / जमा	
99,095.00	एलटीसी (अग्रिम)	1,21,359.00
3,132.00	यात्रा भत्ता भारत और विदेश (अग्रिम)	2,700.00
5,000.00	टेलीफोन (अग्रिम)	-
-	मुद्रण और लेखनःसामग्री (अग्रिम)	14,894.00
-	रसायन (अग्रिम)	68,82,831.00
-	उपभोज्य, कांच के बने पदार्थ और पुर्जें (अग्रिम)	48,07,271.00
-	कंप्यूटर रखरखाव (अग्रिम)	15,000.00
-	अन्य अनुसंधान व्यय (अग्रिम)	5,000.00
2,52,229.00	सामान्य जमा एवं अग्रिम	12,58,926.00
59,57,169.00	जीडीए (अन्य)	59,57,169.00
-	पूर्व भुगतान व्यय	16,75,354.00
63,16,625.00	**योग**	**2,07,40,504.00**

एनआईएबी
हैदराबाद
SP001 : एनएमएमपी मॉडल नर्सरी
पी. आई. प्रो. पी रेड्डन्ना
01.04.2014 से 31.03.2015 तक प्राप्तियां एवं भुगतान खाता

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष राशि रु.	प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष राशि रु.	पिछले वर्ष राशि रु.	भुगतान	वर्तमान वर्ष राशि रु.
6,32,518.00	आदि शेष	6,29,634.00			
-	सहायता अनुदान	-	1,500.00	वेतन – जनशक्ति	3,000.00
-		-	-	उपभोज्य	0.00
-		-	1,384.00	आकस्मिकताएं	10,70,664.00
-		-	-	यात्रा	-
-		-	-	उपरि व्यय	-
-		-	-	उपकरण	-
-		-	-	पुस्तकें	-
-		-	-	एएमसी	-
-		-	-	अन्य	-
-		-	-	निधियों से अंतरण	-
6,32,518.00		**6,29,634.00**	**2,884.00**		**10,73,664.00**
-	आय से अधिक व्यय की अधिकता	4,44,030.00	6,29,634.00	अंत शेष	-
6,32,518.00		**10,73,664.00**	**6,32,518.00**		**10,73,664.00**

एनआईएबी
हैदराबाद
SP002रु डीएसटी इनस्पायर संकाय
पी. आई. डॉ. अभिजीत देरामुख
01.04.2014 से 31.03.2015 तक प्राप्तियां एवं भुगतान खाता

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष राशि रु.	प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष राशि रु.	पिछले वर्ष राशि रु.	भुगतान	वर्तमान वर्ष राशि रु.
	आदि शेष	13,74,912.00			
19,00,000.00	सहायता अनुदान	-	3,84,516.00	वेतन – जनशक्ति	9,72,689.00
-		-	71,388.00	उपभोज्य	3,67,701.00
-		-	6,251.00	आकस्मिकताएं	420.00
-		-	6,036.00	यात्रा	1,505.00
-		-	26,997.00	उपरि व्यय	8,003.00
-		-	29,900.00	उपरि व्यय	-
-		-	-	पुस्तकें	-
-		-	-	एएमसी	-
-		-	-	अन्य	-
-		-	-	निधियों से अंतरण	-
19,00,000.00		**13,74,912.00**	**5,25,088.00**		**13,50,318.00**
-	आय से अधिक व्यय की अधिकता	-	13,74,912.00	अंत शेष	24,594.00
19,00,000.00		**13,74,912.00**	**19,00,000.00**		**13,74,912.00**

एनआईएबी
हैदराबाद
SP003 : रामालिंगास्वामी अध्येतावृत्ति
पी. आई. डॉ. सैयद फैसल
01.04.2014 से 31.03.2015 तक प्राप्तियां एवं भुगतान खाता

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष राशि रु.	प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष राशि रु.	पिछले वर्ष राशि रु.	भुगतान	वर्तमान वर्ष राशि रु.
-	आदि शेष	-			
-	सहायता अनुदान	21,09,000.00	-	वेतन – जनशक्ति	11,22,500.00
-		-	-	उपभोज्य	6,65,532.00
-		-	-	आकस्मिकताएं	50,817.00
-		-	-	यात्रा	1,70,277.00
-		-	-	उपरि व्यय	-
-		-	-	मुनपचउमदज	15,903.00
-		-	-	पुस्तकें	-
-		-	-	एएमसी	-
-		-	-	अन्य	-
-		-	-	निधियों से अंतरण	-
-		**21,09,000.00**	**-**		**20,25,029.00**
-	आय से अधिक व्यय की अधिकता	-	-	अंत शेष	83,971.00
-		**21,09,000.00**	**-**		**21,09,000.00**

एनआईएबी
हैदराबाद
Sp004 : एनएमपीबी, आयुष विभाग, स्वास्थ्य एवं परिवार कल्याण मंत्रालय, नई दिल्ली
पी. आई. प्रो. पी रेड्डन्ना / डॉ. परेश षर्मा
त्मबमपचजे ंदक च्ंलउमदजे ।बबवनदज तिवउ 01.04.2014 जव 31.03.2015

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष राशि रु.	प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष राशि रु.	पिछले वर्ष राशि रु.	भुगतान	वर्तमान वर्ष राशि रु.
-	आदि शेष	-			
-	सहायता अनुदान	11,00,000.00	-	वेतन – जनशक्ति	1,11,174.00
-		-	-	उपभोज्य	1,04,145.00
-		-	-	आकस्मिकताएं	1,966.00
-		-	-	यात्रा	-
-		-	-	उपरि व्यय	40,000.00
-		-	-	उपकरण	-
-		-	-	पुस्तकें	-
-		-	-	एएमसी	-
-		-	-	अन्य	-
-		-	-	निधियों से अंतरण	-
-		**11,00,000.00**	**-**		**2,57,285.00**
-	आय से अधिक व्यय की अधिकता	-	-	अंत शेष	8,42,715.00
-		**11,00,000.00**	**-**		**11,00,000.00**

एनआईएबी
हैदराबाद
SP005 डीएसटी महिला वैज्ञानिक योजना
पी. आई. डॉ. अपर्णा रचमल्लु
01.04.2014 से 31.03.2015 तक प्राप्तियां एवं भुगतान खाता

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष राशि रु.	प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष राशि रु.	पिछले वर्ष राशि रु.	भुगतान	वर्तमान वर्ष राशि रु.
-	आदि शेष	-			
-	सहायता अनुदान	8,20,000.00	-	वेतन – जनशक्ति	1,75,000.00
-		-	-	उपभोज्य	2,97,254.00
-		-	-	आकस्मिकताएं	-
-		-	-	यात्रा	13,250.00
-		-	-	उपरि व्यय	36,000.00
-		-	-	उपकरण	-
-		-	-	पुस्तकें	-
-		-	-	एएमसी	-
-		-	-	अन्य	-
-		-	-	निधियों से अंतरण	-
-		**8,20,000.00**	**-**		**5,10,504.00**
-	आय से अधिक व्यय की अधिकता	-	-	अंत शेष	3,09,496.00
-		**8,20,000.00**	**-**		**8,20,000.00**

एनआईएबी
हैदराबाद
SP006 (VB): एसईआरबी युवा वैज्ञानिक
पी. आई. डॉ. वसुंधरा भंडारी
01.04.2014 से 31.03.2015 तक प्राप्तियां एवं भुगतान खाता

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष राशि रु.	प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष राशि रु.	पिछले वर्ष राशि रु.	भुगतान	वर्तमान वर्ष राशि रु.
-	आदि शेष	-			
-	सहायता अनुदान	10,00,000.00	-	वेतन – जनशक्ति	-
-		-	-	उपभोज्य	-
-		-	-	आकस्मिकताएं	-
-		-	-	यात्रा	-
-		-	-	उपरि व्यय	-
-		-	-	उपकरण	-
-		-	-	पुस्तकें	-
-		-	-	एएमसी	-
-		-	-	अन्य	-
-		-	-	निधियों से अंतरण	-
-		**10,00,000.00**	**-**		**-**
-	आय से अधिक व्यय की अधिकता	-	-	अंत शेष	10,00,000.00
-		**10,00,000.00**	**-**		**10,00,000.00**

एनआईएबी
हैदराबाद
FS001 : अध्येतावृत्ति
पी. आई. : डॉ. हिमबिंधु गली
01.04.2014 से 31.03.2015 तक प्राप्तियां एवं भुगतान खाता

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष राशि रु.	प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष राशि रु.	पिछले वर्ष राशि रु.	भुगतान	वर्तमान वर्ष राशि रु.
-	आदि शेष	-			
-	सहायता अनुदान	3,87,665.00	-	वेतन – जनशक्ति	2,32,275.00
-		-	-	उपभोज्य	-
-		-	-	आकस्मिकताएं	-
-		-	-	यात्रा	-
-		-	-	उपरि व्यय	-
-		-	-	उपकरण	-
-		-	-	पुस्तकें	-
-		-	-	एएमसी	-
-		-	-	अन्य	-
-		-	-	निधियों से अंतरण	-
-		**3,87,665.00**	**-**		**2,32,275.00**
-	आय से अधिक व्यय की अधिकता	-	-	अंत शेष	1,55,390.00
-		**3,87,665.00**	**-**		**3,87,665.00**

एनआईएबी
हैदराबाद
FS002 : डीबीटी आरए
पी. आई. : डॉ. दिलीप कुमार
01.04.2014 से 31.03.2015 तक प्राप्तियां एवं भुगतान खाता

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष राशि रु.	प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष राशि रु.	पिछले वर्ष राशि रु.	भुगतान	वर्तमान वर्ष राशि रु.
-	आदि शेष	-			
-	सहायता अनुदान	3,93,200.00	-	वेतन – जनशक्ति	2,28,800.00
-		-	-	उपभोज्य	7,681.00
-		-	-	आकस्मिकताएं	-
-		-	-	यात्रा	-
-		-	-	उपरि व्यय	-
-		-	-	उपकरण	-
-		-	-	पुस्तकें	-
-		-	-	एएमसी	-
-		-	-	अन्य	-
-		-	-	निधियों से अंतरण	-
-		**3,93,200.00**	**-**		**2,36,481.00**
-	आय से अधिक व्यय की अधिकता	-	-	अंत शेष	1,56,719.00
-		**3,93,200.00**	**-**		**3,93,200.00**

एनआईएबी

हैदराबाद

GAP001 : भैंस प्रजाति और फार्म पशु रोग में ट्रांसक्रिप्टोमी विस्लेशण तथा स्वास्थ्य पर सहज प्रतिरक्षा की आनुवंशिकी

पी. आई. : डॉ. सतीश कुमार

01.04.2014 से 31.03.2015 तक प्राप्तियां एवं भुगतान खाता

(राशि – रु.)

पिछले वर्ष राशि रु.	प्राप्तियां	वर्तमान वर्ष राशि रु.	पिछले वर्ष राशि रु.	भुगतान	वर्तमान वर्ष राशि रु.
-	आदि शेष	-			
-	सहायता अनुदान	1,24,162.00	-	वेतन – जनशक्ति	71,125.00
-		-	-	उपभोज्य	-
-		-	-	आकस्मिकताएं	47,557.00
-		-	-	यात्रा	5,480.00
-		-	-	उपरिव्यय	-
-		-	-	उपकरण	-
-		-	-	पुस्तकें	-
-		-	-	एएमसी	-
-		-	-	अन्य	-
-		-	-	निधियों से अंतरण	-
-		**1,24,162.00**	**-**		**1,24,162.00**
-	आय से अधिक व्यय की अधिकता	-	-	अंत शेष	-
-		**1,24,162.00**	**-**		**1,24,162.00**

मानव कल्याण के लिए पशु स्वास्थ्य

Animal Health for Human Welfare

NIAB

National Institute of Animal Biotechnology

4th and 5th Floors, Axis Clinical Building, Opp. Talkie Town Theatre

Miyapur, Hyderabad - 500049