گیاهان ترانس ژن و داروسازی

دکتر عبدالعلی محقق زاده

گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی ،

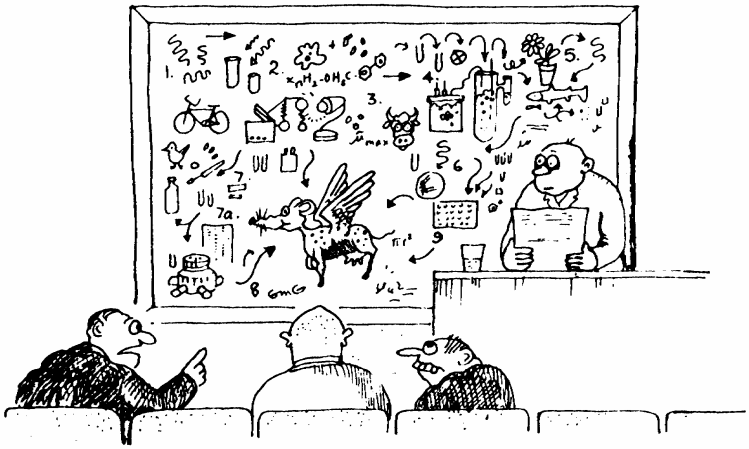
دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

مقدمه

بیوتکنولوژی کودکی است که در اعماق قرون متولد شده و طی یکی دو دهه اخیر رشد فزاینده‌ای داشته است به گونه‌ای که اینک در تمامی شئون زندگی بشر آثار و نشانه‌های آن به وضوح دیده می‌شود. گذر ایام و سده‌ها، تنها شاهد استفاده از یکی از جلوه‌های این علم، یعنی تخمیر، آن هم در صنایع غذایی بود تا این که بشر پا به آستانه سده بیستم نهاد. در این سده با پیشرفت علوم، به ویژه در زمینه‌های میکروبیولوژی، ژنتیک و بیوشیمی، جلوه‌های بالنده این علم آشکار گردید.

کاربردهای ارزشمند بیوتکنولوژی در زمینه کشاورزی، تغذیه، دامپروری، پزشکی، داروسازی، صنایع نظامی، انرژی، محیط زیست و سلامتی بشر زمینه سرمایه‌گذاریهای کلانی را از سوی کشورهای پیشرفته فراهم کرد که به طور تصاعدی در حال افزایش چشمگیر است.

کشف پنی‌سیلین در اواسط سده اخیر و به دنبال آن تولید آنتی‌بیوتیکهای دیگر، تعیین ساختار DNAو آنزیم‌ها تحولی بس شگفت در زندگی انسان ایجاد کرد به گونه‌ای که امروزه انسان به توانایی‌هایی دست یافته که تصور آن تا



بیست سال پیش مشکل می‌نمود، به عنوان مثال می‌توان به تولید گیاهان و جانورانی با ویژگیهای بهبود یافته، تولید پروتئینهایی با خاصیت دارویی به کمک میکروارگانیسم‌ها و گیاهان، تشخیص پیش از تولد بسیاری از بیماریهای ژنتیکی و درمان برخی از بیماریهای مادرزادی اشاره کرد. از این رو هر روز مقاله‌های جدیدی در این زمینه و در سطح بین المللی چاپ می‌شود.

روش عمل در بیو تکنولوژی

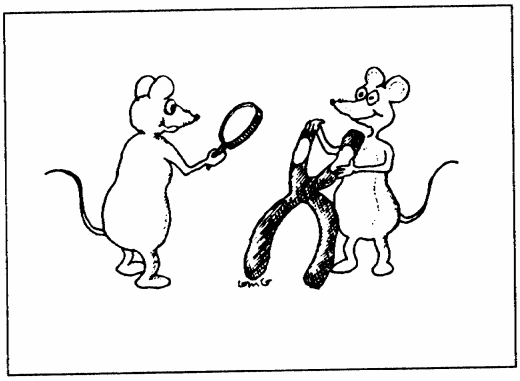
ابتدا قطعه DNA مورد نظر باید از کل DNA جدا شود، این کار با استفاده از آندونوکلئوزهای درونی محدود کننده (restriction endonuclease) انجام می‌شود. امکان بقای یک ژن خارجی در داخل سلول به دلیل عدم توانایی تکثیر این ژن، ممکن نیست و بایستی از حاملهای کلون سازی که توسط آنها تکثیر ژن در سیستمهای میزبان ممکن باشد، استفاده کرد. این حاملها می‌توانند پلاسمید و یا ژن ویروس باشند. از این رو در این مرحله قطعه DNA مورد نظر باید به این حاملها از طریق پایانه‌های مکمل متصل گردد. در مرحله بعد

DNA نوترکیب (chimaera) طی فرآیند انتقال، وارد یک سلول گیرنده می‌شود (transformation). در مرحله آخر، سلولهای محتوی DNA نوترکیب باید از بقیه سلولها جدا گردند که برای این منظور می‌توان یک ژن مقاوم به آنتی بیوتیک ویژه را در ساختمان DNA نو ترکیب قرار داد و سپس آنتی بیوتیک را به مجموعه سلولها اضافه و سلولهای مقاوم به آنتی بیوتیک را به عنوان سلولهای مورد نظر جدا کرد (۱).

گیاهان ترانس ژن

گیاهان امروزه به عنوان مهمترین منبع تجدیدپذیر روی زمین هستند. نه تنها تمام انسانها و حیوانات نیازهای غذایی خود را به وسیله گیاهان تأمین می‌کنند، بلکه نیازهای غیر تغذیه‌ای، شیمیایی و صنعتی هم توسط گیاهان مرتفع می‌شود.

پیشرفت سریعی که در مهندسی ژنتیک گیاهان رخ داده است، کاربرد آنها را برای تولید محصولات جدیدی تسهیل می‌کند. وجود گیاهان به عنوان



بیوراکتورهای طبیعی، موجب شده که گیاهان برای تولید پروتئین‌های صنعتی و داروسازی به مقدار وسیعی مورد استفاده قرار گیرند. کم هزینه بودن تولید و تکثیر گیاهان، ظرفیت نامحدود در استفاده از گیاهان و وجود گیاهان به عنوان یک منبع غذایی، استفاده از آنها را در این زمینه بسیار ارزشمند نموده است. اخیراً تعداد زیادی گیاه ترانس ژن ساخته شده‌اند که از میان آنها می‌توان به تنباکو

(tobacco) و Arabidopsis اشاره کرد (۲).

راههای انتقال اطلاعات ژنتیکی

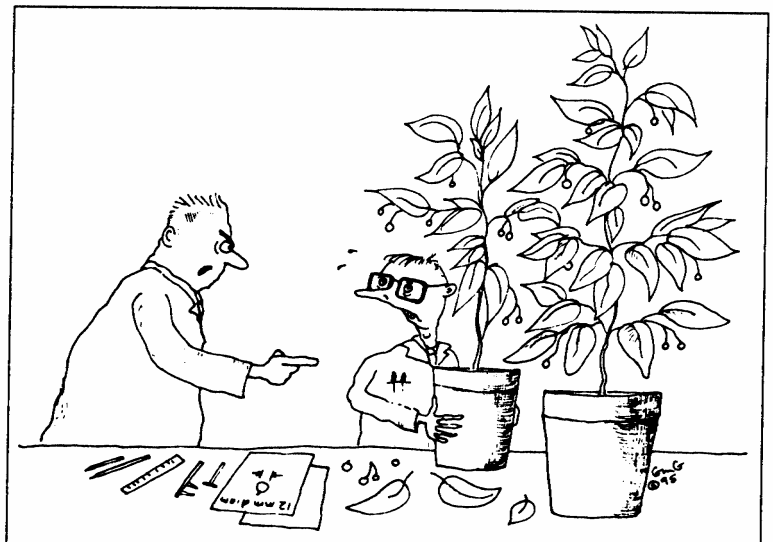
همانطور که گفته شد با استفاده از روشهای مهندسی ژنتیک، می‌توان ژنهایی را وارد گیاه کرد که در هیچ خانواده گیاهی وجود ندارد. انتقال اطلاعات ژنتیکی می‌تواند به دو صورت انجام گیرد:

الف) با استفاده از حامل

ب) بدون استفاده از حامل

الف) با استفاده از حامل

در این روش از حاملهای ویروسی (ویروسهای گیاهی) و یا حاملهای مشتق از پلاسمید (Ti) که در باکتری بیماری‌زای گیاهی بنام Agrobactrium tomefaciens وجود دارد، استفاده می‌شود (۲).



هی آقا، من گیاهی بابرگهای کوچک و میوه‌های بزرگ می خواستم..!

الف ـ ۱ ـ ویروسهای گیاهی به عنوان حامل

در نگاه اول به‌نظر می‌رسد ویروسها حاملهای مناسبی باشند زیر اسید نوکلئیک آنها به سرعت می‌تواند گیاه را آلوده سازد اما این بدان معنا نیست که هر ویروس گیاهی را بتوان به منظور فوق به کار برد، بلکه شرایط دیگری نیز باید فراهم شوند. اولاً ویروس باید بتواند از طریق مجاری موجود در دیواره سلولی، از سلولی به سلول دیگر پخش و انتشار یابد. ثانیاً وارد کردن اسید نوکلئیک بیگانه به درون ژنوم ویروس ممکن است آن را به‌قدری بزرگ کند که این DNA نو ترکیب قادر به استقرار در غشا پروتئینی خود نباشد. از این رو اسید نوکلئیک ویروسی باید در نبود پوشش پروتئینی خود قادر به همانند سازی و انتشار از سلولی به سلول دیگر باشد. ثالثاً ژنوم تغییر یافته ویروس، نباید هیچ‌گونه نشانه‌های بیماری را در گیاه آلوده شده ایجاد کند و یا اینکه نشانه‌های بسیار کمی را بوجود آورد. رابعاً ویروس باید ترجیحاً تعداد زیادی میزبان داشته باشد و بالاخره از آنجا که مهندسی ژنتیک اصولاً بر اساس دستکاریهای DNA استوار است، ترجیح داده می‌شود که حامل ویروسی دارای یک ژنوم DNA باشد. فقط در دو گروه از ویروسهای گیاهی ژنومهای DNA وجود دارد که عبارتند از: جمینی ویروس ها و کولیموویروسها.

البته با ساختن DNA مکمل (c-DNA) از روی RNA، امروزه از ویروسهای گیاهی RNAدار نیز می‌توان بعنوان حامل استفاده کرد. متأسفانه، حاملهای ویروسی به طریق ناپایدار اطلاعات را انتقال می دهند، پس برای تکثیر گیاه ناگزیر باید از روش غیر جنسی استفاده کرد که این روش برای تمام گیاهان امکان پذیر نیست (۲).

الف ـ ۲ ـ پلاسمید Ti بعنوان حامل

تحقیقات بیولوژی مولکولی در زمینه بیماری تاول تاجی (crown gall) که ناشی از توانایی رشد بیش از حد پس از پیوند بر روی گیاه سالم است، نشان داده که Agrobactrium tomefaciens دارای نوعی سیستم طبیعی برای مهندسی ژنتیک در گیاهان باز دانه و نهان دانه دو لپه‌ای می‌باشد. به ویژه خاصیت سرطان زایی این باکتری در پلاسمیدی قرار دارد که بعنوان پلاسمید Ti (القاکننده تومور) شناخته شده است. وقتی باکتری سلول گیاهی را آلوده می کند، قسمتی از DNA

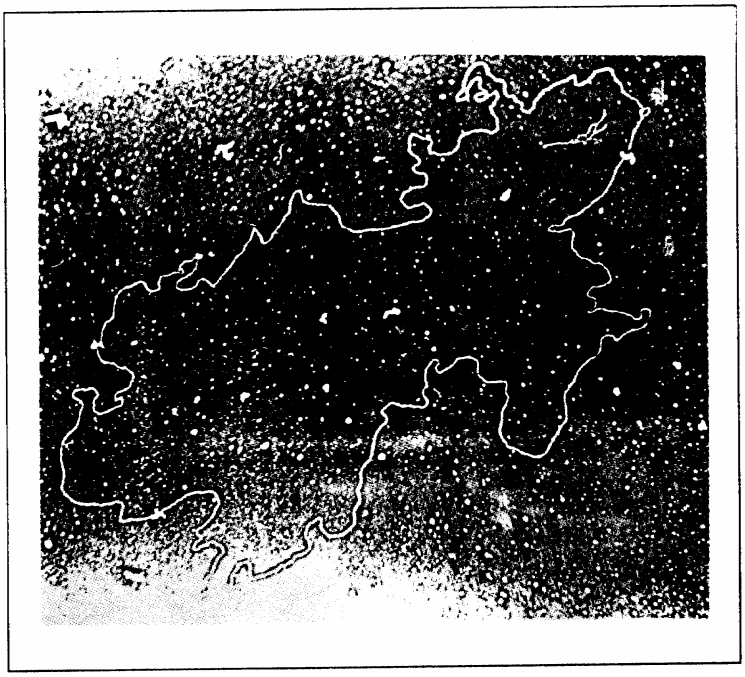
که اصطلاحاً T-DNA نام دارد، به درون ژنوم گیاه انتقال می‌یابد. ارزش سیستم Ti به این دلیل است که نه تنها ژن نو ترکیب در تمامی سلولهای گیاهی که از رشد کالوس ایجاد می‌شوند وجود دارد، بلکه این ژن در گیاهانی که دانه تولید می‌کنند، نیز به دانه انتقال می‌یابد. مهمترین مسئله سیستم Ti این است که برای دستیابی به گیاهان انتقال یافته ژنتیکی، باید از سلولهایی استفاده کرد که اولاً بتوانند دوباره باز زایی شوند و ثانیاً انتقال کامل اطلاعات در مورد آنها انجام گیرد.

مؤثرترین راه برای تغییر سلولها به حالت مستعد، مجروح کردن مکانیکی و یا آنزیمی آنها است. گیاهان علفی به ویژه غلات و ذرت که از نظر اقتصادی بهترین گیاهان محسوب می‌شوند، هیچ واکنشی در مقابل مجروح شدن از خود نشان نمی‌دهند. پس در نتیجه ایجاد غلات ترانس ژن با واسطه آگروباکتریوم موفقیت آمیز نبوده است. اگر چه DNA ویروسی از طریق سیستم Ti وارد غلات شده است، این DNA در سیتوپلاسم همانند سازی کرده و به ژنوم میزبان وارد نمی‌شود. البته تعدادی از سلولهای گیاهان تک لپه‌ای در مقابل مجروح شدن از خود واکنش نشان می‌دهند که از آن جمله می‌توان سیب‌زمینی شیرین، مارچوبه و برنج را نام برد. این نکته نشان دهنده آن است که استفاده از Ti مختص گیاهان دو لپه‌ای نمی‌باشد (۲).

ب) بدون استفاده از حامل

در این روش بر خلاف روشهای قبلی DNA خارجی، بدون نیاز به حامل بیولوژیکی، به صورت مولکول برهنه وارد سلول می‌شود. عملاً به سه روش الکتریکی، فیزیکی و شیمیایی می‌توان عمل نمود. هر کدام از این روشها به‌گونه‌ای طراحی شده‌اند که بر سدهایی مانند دیواره سلولی و غشا پلاسمایی غلبه گردد.

دیواره سلولی گیاه حاوی میکرو فیبریلهای سلولزی است که در میان آنها پکتین، همی سلولز و پروتئین قرار دارند. از این رو در مقابل نفوذ ملکولهای بزرگ، مانند اسید نوکلئیک، توسط این دیوار متراکم ممانعت به‌عمل می‌آید. همچنین غشا سلولی به واسطه ساختمان دو لایه لیپیدی، از عبور ملکولهای قطبی و آب دوست جلوگیری می‌کند. برای غلبه بر سد دیواره سلولی، دیواره را بوسیله هضم آنزیمی از بین برده و سلولهایی را بنام پروتوپلاست ایجاد می کنند. بنابراین تنها مشکل در این زمینه عبور از غشا سیتوپلاسمی است که برای حل این مشکل تدابیری وجود دارد (۲) که در ادامه این مقاله به این تدابیر اشاره می‌گردد.



پلاسمید Ti در A.tomefaciens (۳).

ب ـ ۱ ـ روشهای شیمیایی

این روشها خود به دو طریق انجام می‌گیرند، در روش اول پلی‌اتیلن گلیکول در غلظت مناسب (۲۰ - ۱۵٪ وزنی / حجمی) به همراه پروتوپلاست و DNA به‌کار برده می‌شود. نکته مهم در این روش غلظت مناسب پلی اتیلن گلیکول است به‌گونه‌ای که DNA جذب گردیده ولی ادغام مکرر در سلول کمتر انجام گیرد. مکانیسم عمل پلی‌اتیلن گلیکول بخوبی مشخص نشده است اما به نظر می‌رسد که این ماده،آب را از سطح پروتوپلاست خارج نموده و یک پل ملکولی بین بخشهای لیپیدی ایجاد می‌نماید. این بخشها ناپایدار بوده و در نتیجه شستن از بین می‌روند ولی با این وجود قادرند به DNA اجازه ورود دهند.در روش دوم الحاق پروتوپلاست توسط لیپوزوم صورت می‌گیرد. در مرحله بعد با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول به‌عنوان الحاق کننده،لیپوزوم با پروتوپلاست الحاق می‌گردد(۲).

ب ـ ۲ ـ روشهای الکتریکی

این روشها نسبت به روش شیمیایی ساده‌تر بوده و از نظر نفوذپذیری غشا، نسبت به روشهای شیمیایی موثرتر هستند.اصول کلی به این صورت است که وقتی سلول یا پروتوپلاست تحت تاثیر پالسهای الکتریکی کوتاه (میکرو یا میلی ثانیه) قرار گیرد، در نفوذپذیری غشا نسبت به ملکولهای هیدروفیلی مانند DNA افزایشی مشاهده می‌گردد اما افزایش ولتاژ از حد مشخصی می‌تواند موجب مرگ سلولی شود. به نظر می‌رسد علت نفوذپذیری غشا، تشکیل و افزایش وسعت منافذ در غشا دو لایه‌ای لیپیدی باشد.در حالت عادی اختلاف پتانسیل بین دو طرف غشا ۱۰۰ mv می‌باشد. جریان الکتریکی با انتقال یونها، پتانسیل غشا را افزایش می‌دهد که نتیجه آن ایجاد منافذی در غشاء می‌باشد که این منافذ امکان ورود DNA را به داخل سلول فراهم می‌کنند.

تخلخل الکتریکی سلول روشی است که طبق خاصیت جریان الکتریکی که در بالا به آن اشاره شد عمل می کند.در این روش نیروی الکتریکی حتی قادر است بر دیوار سلولی که در روش شیمیایی در مقابل عبور DNA مقاومت نشان می‌داد،غلبه نماید(۲).

ب ـ ۳ ـ روشهای مکانیکی

این روشها ابعاد کاربردی وسیعی داشته و با کمک وسایل مکانیکی و فیزیکی انجام می‌گیرند. به طور کلی این روشها به سه دسته تقسیم می‌شوند:

a) تزریق در مقیاس میکرو (Microinjection)

b) بمباران میکروگلوله (Microprojectile bombardment)

c) تلقیح با واسطه گری کربید (Carbid-Mediated transfection)

ب ـ ۳ ـ a ـ تزریق در مقیاس میکرو

این روش بیشترین کاربرد را در زمینه تلقیح DNA به داخل سلول دارد. این کار با کمک وسایل الکترومکانیکی انجام می‌شود.در این روش سوزنهای شیشه‌ای و ریزی را بداخل هسته تک‌تک سلولها،جنین‌های جوان حاصل از کشت و از همه مهمتر پروتوپلاست‌ها وارد می‌کنند(۲).

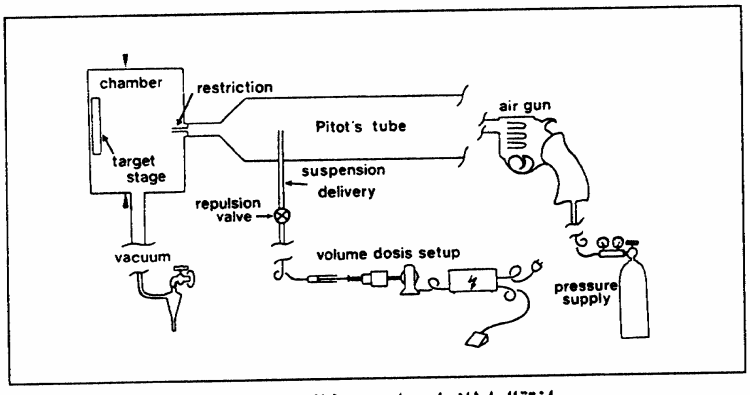
ب ـ ۳ ـ b ـ بمباران میکروگلوله

کاربردیترین و بهترین روش مورد استفاده در حال حاضر که لااقل در مورد

حبوبات بسیار ارزشمند می‌باشد، بمباران میکروگلوله است.در این روش ساچمه‌های کوچک فلزی سریع که حامل DNA ویاRNA هستند به داخل سلول و یا بافت نفوذ می‌کنند. جنس این ذرات از طلا و یا تنگستن می‌باشد که چگالی تقریباً بالایی دارند. قطر این ساچمه‌ها ۱ تا ۴ میکرومتر است که با سرعت زیاد (۲۵۰۰ متر/ثانیه) حرکت کرده و به داخل سلول نفوذ می‌کنند، در نتیجه DNA می‌تواند در داخل سلول آزاد شده و بیان گردد.این بیان می‌تواند ناپایدار باشد و یا به علت الحاق DNA به داخل کروموزوم، پایدار بوده و از نسلی به نسل دیگر انتقال یابد.ساچمه‌ها به دنبال یک انفجار به داخل سلول وارد می‌شوند (این ساچمه‌ها توسط DNA پوشش داده شده و در مجموعه‌ای بزرگتر به نام فشنگ جای می‌گیرند).انفجار با کمک مخزن باروت،تخلیه الکتریکی و تحت تأثیر گاز هلیم پرفشار انجام می‌گیرد.در نتیجه انفجار، فشنگها ضمن حرکت به یک صفحه متوقف کننده برخورد نموده، ساچمه‌های کوچک به طرف جلو حرکت کرده و به داخل بافت نفوذ می‌کنند و ضمن حرکت DNA را رها می‌نمایند (۲).

ب ـ ۳ ـ c ـ تلقیح با واسطه‌گری کربید

در این روش ابتدا تارهای کربید سیلیکون در مدت زمان طولانی تولید می‌گردد، این تارها در واقع کریستالهای دراز،شبیه سوزن و محلول در آب هستند.وقتی مجموعه سلولی در حضور تارها وDNA قرار گیرد، DNA پس از نفوذ تارها به‌داخل سلول، وارد آن می‌شود (۲).

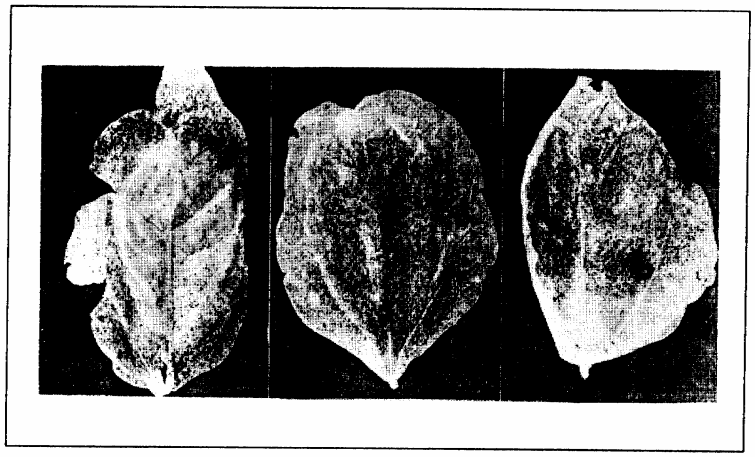


انتقال اطلاعات با کمک تفنگ ژنتیک (۴).

مثالهایی از کاربرد گیاهان ترانس ژن

هیرودین (Herudin)

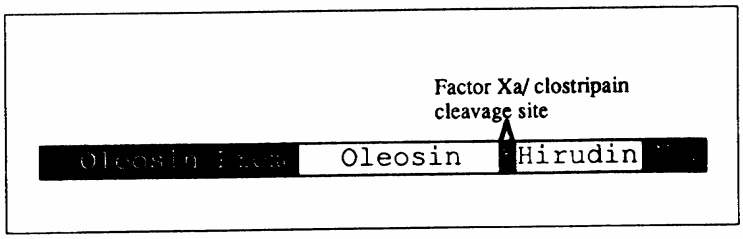
امروزه یکی از مهمترین معضلات در علم پزشکی سکته‌های قلبی است.عامل وجود این بیماریها،لخته‌های غیر طبیعی در خون بیمار می‌باشد.هپارین به عنوان بهترین دارو برای جلوگیری از این بیماریها امروزه مصرف می‌گردد که این دارو دارای ویژگی آنتی ترومبینی بوده و مصرف این دارو به‌صورت بی‌رویه می‌تواند منجر به خونریزی شود. همچنین هپارین قادر به اتصال و بی اثر کردن ترومبین اتصال یافته با فیبرین موجود در لخته نمی‌باشد و خیلی سریع توسط هپارینیاز غیرفعال می‌گردد.



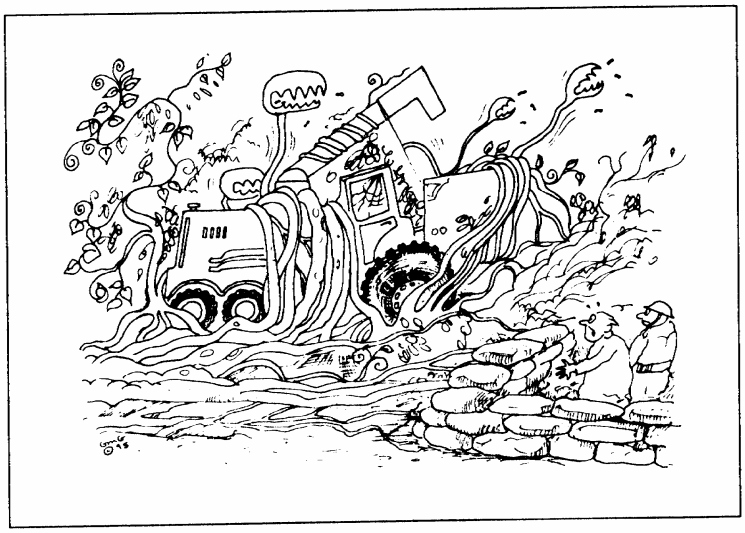
برگهای بمباران شده با تفنگ ژنتیک (۵).

زالو با نام علمی Hirudo medicinalis در طب سنتی برای جلوگیری و درمان بیماریهای خونی کاربرد داشته‌است.در سال ۱۹۹۵،از غدد بزاقی زالو پروتئینی به نام هیرودین جدا گشت که عامل ضد انعقادی فعالی است.این پروتئین قادر می‌باشد با ترومبین کمپلکس برقرار کرده و از عمل آنزیمی ترومبین در ایجاد لخته‌های خونی جلوگیری کند. مقدار هیرودین تولید شده در زالو بسیار کم است به‌طوری‌که نمی‌توان در مقیاس صنعتی از زالو بعنوان منبع تولید هیرودین استفاده کرد. پس تحقیقات در این زمینه متوجه بیوتکنولوژی شد. امروزه از

مخمرها برای تولید این پروتئین استفاده می‌گردد که هزینه فراوانی را در بر دارد از جمله این که محصول نیاز به روشهای خالص سازی دقیق و پیچیده دارد.



ساختار ژنتیکی قطعه هیرودین ـ اولئوزین



ای وای از دست ژن هیرودین! از ماست که بر ماست!

طبق مطالعات انجام پذیرفته به نظر می‌رسد استفاده از گیاهان ترانس ژن در زمینه تولید هیرودین بسیار امیدبخش و کارآمد باشد.اساس کار به این صورت است که ژن مولد هیرودین را به گیاه شلغم با نام علمی Brassica napus وارد

مـــی‌کنند. ایـــن ژن در پـــلاسمید حـــامل،کـــنار ژن اولئـــوزین (Oleosine) گـــیاه Arabidopsis (اولئوزین آن ۹۱٪ مشابه اولئورین گیاه شلغم است)،قرار مـی‌گیرد. این امر سبب می‌شود هیرودین مانند اولئوزین،در دانه گیاه ذخیره گردد. بین دو ژن مذکور، ژن پروتئاز Xa قرار می‌گیرد که بعداً محصول آن قادر به قطع اتصال هیرودین و اولئوزین می‌باشد.لازم به ذکر است که انتقال ژن هیرودین متصل بـه اولئوزین با کمک آگروباکتریوم انجام می‌گیرد.

دانه‌های روغنی دارای این پروتئین را با کمک سانتریفوژ از سـایر قسـمتهای گیاه جدا کرده و با کمک تکنیک کروماتوگرافی طی دو مرحله هیرودین را استخراج می‌کنند.مزایای این تکنیک سهولت استخراج هیرودین و خـلوص مـحصول است. در حال حاضر برای تولید هـیرودین در مـقیاس وسـیع کـاربرد روشـهای جـدید خالص سازی پروتئین‌های نو ترکیب،تحت بررسی می‌باشد (۲).

آنتی‌بادی‌ها

همانطور که قبلاً بیان گردید،گیاهان تـرانس ژن یک سـیستم ارزشـمند بـرای بیان بسیاری از پروتئین‌های نوترکیب بـه شـمار مـی‌روند.از شـاخص‌ترین ایـن پروتئین‌ها،مـلکولهای مشـتق شـده از آنـتی‌بادی مـی‌باشند.بـا کـمک ایـن تکـنیک سلولهای گیاهی قادرند علاوه بر ساخت ملکولهای کامل آنتی‌بادی،سنتز قـطعات مـختلف نوترکیب آنتی‌بادی را هـم انـجام دهـند. سـاخت ایـن قـطعات، بـر خـلاف ملکولهای کامل آنتی‌بادی، نیاز بـه قـرار گـرفتن اجـزای مـختلف آنـتی‌بادی کـنار یکدیگر ندارد و در نهایت مـلکول سـاخته شـده نـیازمند فـرآیـند از طـریق شـبکه آندوپلاسمی نمی‌باشد.اصول ساخت مـلکولهای آنـتی‌بادی در سـلولهای گـیاهی مشابه سلولهای پستانداران است.

ساخت آنتی‌بادی در گیاه از دو جنبه حایز اهمیت است:

الف ـ ایمونیزاسیون داخل سلولی:

با کمک روشهای انتقال ژن می‌توان سلولهای گیاهی را وادار ساخت تـا عـلیه قسمتهایی از خود سلول مثل آنزیم‌ها و ملکولهای تنظیم کننده رشد گیاه،آنتی‌بادی بسازد.نتیجه عملی این است که می‌توان فرضاً متابولیسم گیاه را در جهت ساخت متابولیت‌های مورد نظر تحت کنترل درآورد.

ب ـ مقاومت در برابر بیماریها:

آنتی‌بادی‌ها نوترکیب می‌توانند برای گسترش مقاومت در برابر هر پاتوژن گیاهی مثل قارچ، ویروس، باکتری، پروتئین نماتودی به‌کار روند. علاوه بر این با کمک گیاه می‌توان آنتی‌بادیهایی بر علیه بیماریهای انسان ساخت که از آن جمله می‌توان به IgA ترشحی اشاره کرد(۲).

IgA ترشحی - ترکیب بی‌نظیری است که توسط گیاهان ساخته‌شده و نوع خاصی از ایمونوگلوبولین ترشحی می‌باشد که به‌صورت طبیعی در ترشحات موکوسی سطوح لوله گوارش وجود دارد.

در IgA ترشحی نوترکیب،دو تغییر اصلاحی سبب افزایش فعالیت آنتی‌بادی در محیط موکوسی شده است:

الف) با استفاده از زنجیر پروتئینی J،آنتی‌بادی به‌صورت دیمر در آمده و به این ترتیب تمایل آنتی‌بادی برای اتصال آنتی‌ژن افزایش می‌یابد.

ب) با استفاده از یک جز ترشحی درجه مقاومت آنتی‌بادی در مقابل پروتئولیز افزایش می‌یابد که این امر به پایداری آنتی‌بادی در لوله گوارش کمک زیادی می‌کند.از این آنتی‌بادی می‌توان برای ایمونوتراپی موضعی سطوح استفاده کرد،زیرا از تجمع باکتریهای پاتوژن جلوگیری نموده و همچنین باکتریهای فلور دستگاه گوارش را تعدیل می‌کند.

Antibody form	Antigen	Number of protein chains	Plant species
Single domain (dAb)	Substance P (neuropeptide)	1	*Nicotiana*
Single chain Fv	Phytochrome	1	*Nicotiana*
Single chain Fv	Artichoke mottled crinkle virus coat protein	1	*Nicotiana*
Fab; IgG (κ)	Human creatine kinase	2	*Nicotiana* *Arabidopsis*
IgG (κ)	Transition-state analogue	2	*Nicotiana*
IgG (κ)	Fungal cutinase	2	*Nicotiana*
IgG (κ) and IgG/A hybrids	*Streptococcus mutans* adhesin	2	*Nicotiana*
Secretory IgA/G	*S. mutans* adhesin	4	*Nicotiana*
IgM (λ)	NP (4-hydroxy-3-nitro-phenyl)acetyl hapten	2	*Nicotiana*

گزیده‌ای از قطعات آنتی بادیهای تولید شده در گیاهان ترانس ژن (۶)

از کاربردهای تحت بررسی این آنتی‌بادی، درمان و پیشگیری از عفونتهای دندانی است.در پیدایش این عفونتها باکتریها به ویژه استرپتوک عامل اصلی به

شمار می‌روند. مصرف خوراکی گیاه تنباکو که مولد این آنتی‌بادی است می‌تواند در درمان و پیشگیری از بسیاری عفونتها که منشا آنها دستگاه گوارش می‌باشد مفید واقع شود (۶).

واکسن ها

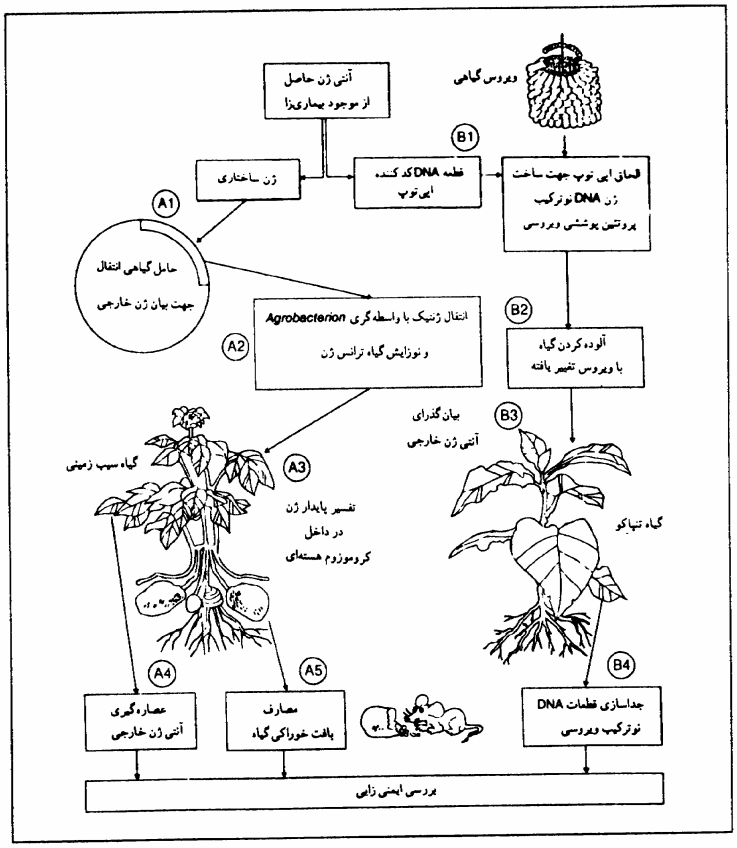
ایده تولید واکسن با کمک گیاهان ترانس ژن در سال ۱۹۹۲ پایه‌گذاری گردید. با توجه به نیاز مبرم به واکسن خوراکی کودکان، لزوم تکنولوژی جدیدی در این زمینه احساس می‌شود. به نظر می‌رسد گیاهان بتوانند سیستم مفیدی را برای تولید واکسن ارائه دهند زیرا به این ترتیب می‌توان مقادیر زیادی از آنتی‌ژن را با هزینه نسبتاً پایینی تولید نمود.

بسیار از عوامل عفونت‌زا در بدن، در غشاهای اپیتلیال ساکن می‌شوند و در نتیجه واکسنهای موثر در برابر این عفونتها باید بتوانند سیستم ایمنی مخاطی را برای تولید IgA ترشحی تحریک کنند، پس ورود آنتی‌ژن از راه خوراکی از نظر ایمنی، نسبت به ورود آنتی‌ژن از راههای غیر خوراکی مؤثرتر می‌باشد اما در عین حال با مصرف خوراکی آنتی‌ژن، دوز مورد نیاز آنتی‌ژن افزایش می‌یابد. یکی از راههای تهیه این واکسنها، کشت سلولی است. این واکسنها به سهولت در دسترس هستند اما خالص سازی آنها نیاز به روشهای دقیق و پرهزینه دارد. همچنین با پیشرفت تکنولوژی، تولید واکسنها با کمک فرآیند تخمیر برای کشورهای در حال توسعه، یعنی درست در جایی که واکسنهای خوراکی به شدت مورد نیاز هستند، به صرفه نیست. گیاهان ترانس ژن که قادرند آنتی‌ژنها را در بافتهایی از گیاه که به‌صورت خوراکی قابل مصرف می‌باشند تولید نمایند، می‌توانند تحت عنوان سیستم‌های تولید واکسنهای خوراکی ارزان قیمت مصرف گردند.

یکی از مهمترین واکسنهای تولید شده در گیاهان، زیر واحد بتا آنتروکسین اشرشیاکلی و زیر واحد بتای توکسین‌کلرا است. زیرا همراه با توسعه کشورها، بیماریهای اسهالی یکی از دلایل عمده مرگ و میر بویژه در میان کودکان می‌باشد و باکتریهایی که منجر به اسهال می‌شوند عمدتاً Vibrio cholerae (عامل بیماری وبا) و آنتروتوکسین اشرشیاکلی هستند. واکسنی خوراکی شامل زیر واحد بتای توکسین‌کلرا (Ct-β) می‌تواند منجر به دفاع در مقابل وبا و عفونتهای حاصل از اشرشیاکلی گردد. به هر حال سازمانهای بهداشت جهانی، به‌خاطر هزینه بالای

تولید ct-βبرای کشورهای در حال توسعه آن را توزیع ننموده است.

زیر واحد بتای آنتروتوکسین اشرشیا کلی از نظر ساختمان، عمل و قدرت آنتی ژن مشابه با ct-β است و اتصال این آنتی ژن به سلول منجر به ورود زیر واحد A آنتروتوکسین اشرشیا به داخل سلول می‌گردد.



زیر واحد بتای آنتروتوکسین اشرشیا کلی که در گیاهان ترانس ژن (سیب زمینی و تنباکو) بیان شده قادر به تحریک ایمنی مخاطی و سرمی است و دقیقاً مشابه زیر واحد بتای آنتروتوکسین باکتری عمل می‌کند. برآمدگیهای سیب زمینی خام ترانس ژن که حاوی این ژن بوده‌اند در تحقیقات آزمایشگاهی به

موشها خورانده شده و در نتیجه در بدن آنها آنتی‌بادیهای سرمی و مخاطی مشاهده گردیده است. پس به نظر می‌رسد که آنتروتوکسین وبا و اشرشیا کلی افزودنیهای خوراکی بسیار عالی هستند که پاسخ ایمنی علیه آنتی ژنهای خوراکی مصرف گردیده همراه با غذا را تحریک می‌کنند. در شکل زیر دو روش تهیه واکسن در گیاهان تنباکو و سیب زمینی نشان داده شده است (۷).

نتیجه

پیشرفت سریع در این رشته با توجه به مقاله‌های متعددی که هر روز در زمینه بیوتکنولوژی منتشر می‌شود می‌تواند به عنوان یک صنعت پُر منفعت و یک ابزار قدرت در آینده‌ای نزدیک برای کشورها مطرح گردد. بدیهی است که هر نوع غفلت در این زمینه موجب عمیق‌تر شدن فاصله کشور ما، ایران، با ملل صنعتی و پیشرفته جهان خواهد گردید. از این رو با توجه به موقعیت کشورمان در تمام زمینه‌ها، توجه به این علم یک امر ضروری و بدون اغراق، حیاتی به نظر می‌رسد.

امید است که تهیه این مقاله بتواند زمینه آشنایی دانشجویان داروسازی را با علم بیوتکنولوژی فراهم نموده و امکان تحقیقات وسیعتری را دراین رشته به ویژه در جامعه داروسازی فراهم نماید.

منابع:

۱ - حقیقی ب. بیولوژی مولکولی. اصفهان: معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان؛ ۱۳۷۳.

2 - Owen MRL. Pen K. Transgenic Plants. London: John Wiley & Sons; 1996: 1 - 20, 261 - 270, 229 - 240.

3 - Grodon MP. Tumor formation in plants. In: Stumpf PK. Conn EE(eds). The biochemistry of Plants. New York: Academic Press; 1980: 536.

4 - Sautter C. Development of a microtargeting device for Particle bombardment of plant meristems. Plant Cell Tissue Organ Culture. 1993; 33: 253.

5 - Vain P. Development of the particle inflow gun. Plant Cell T issue Organ Culture. 1993; 33: 242.

6 - Ma JKC. Hein MB. Immunotherapeutic potential of antibodies produced in plants; TIBTECH. 1995; 13: 522 - 527.

7 - Mason HS. Arntzen CJ. Transgenic plants as vaccine production systems. TIBTECH. 1995; 13: 388 - 392.