دکتر مجتبی طباطبائی یزدی
دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم‌پزشکی تهران

بیوتکنولوژی و کاربردهای آن در پزشکی و داروسازی

امروزه بیوتکنولوژی دورنمای تازه‌ای را در مقابل داروسازان قرار داده است، هرچند که از کاربرد بیوتکنولوژی در داروسازی و پزشکی زمان زیادی نمی‌گذرد و بیوتکنولوژی به مفهوم امروزی خود در مقایسه با سایر رشته‌های داروسازی مانند شیمی‌دارویی و فارماکوگنوزی رشته‌ای بسیار جوان می‌باشد ، پیشرفت در این زمینه به حدی سریع می‌باشد که در حال حاضر بیش از نیمی از داروهای مورد مصرف، محصولات مستقیم بیوتکنولوژی می‌باشند و یا محصولاتی هستند که در بعضی از مراحل ساخت آنان از فرآیندهای بیوتکنولوژیک استفاده شده است و این در شرایطی است که نسل جدیدی از داروها که پروتئینی هستند و دارای خواص فارماکولوژیکی بسیار متفاوتی می‌باشند و تماماً محصولات مهندسی ژنتیک هستند در حال وارد شدن به بازارهای دارویی دنیا می‌باشند و به‌طور قطع در چند سال آینده وضعیت دارودرمانی بسیاری از بیماریها را دگرگون خواهند ساخت. بنابراین آشنایی با داروهای محصول بیوتکنولوژی و چگونگی تولید آنها برای داروسازان و پزشکان امری ضروری بنظر می‌رسد. به همین دلیل و بنابه دعوت مدیر مسئول محترم مجله رازی قرار براین شده است که در مجله رازی بخشی به بیوتکنولوژی اختصاص داده شود. در این بخش سعی براین خواهد شد که مقالاتی در مورد روشهای بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک ارائه شوند و سپس به معرفی و چگونگی تولید محصولات مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی خواهیم پرداخت و در این شماره به تاریخچه بیوتکنولوژی به‌طور بسیار مختصر اشاره خواهیم داشت.

▣ اتانول اولین ماده شیمیائی بود که با استفاده از میکروارگانیسمها تولید گشت.

تاریخ بیوتکنولوژی

اگر بیوتکنولوژی را به معنای اولیه خود استفاده از میکروارگانیسمها به منظور تولید و یا تغییر در ماده خاصی بدانیم بنابراین با این تعریف بیوتکنولوژی علم جدیدی نیست و از هزاران سال پیش بشر از مواد خوراکی از قبیل نان، سرکه، ماست، پنیر و ... استفاده می‌کرده است بدون آنکه از نقش واقعی میکروارگانیسمها در فرآیندهای فوق اطلاع دقیقی داشته باشد معمولاً چگونگی تولید این محصولات به صورت تجربی سینه به سینه از نسلی به نسل دیگر منتقل می‌شده است.

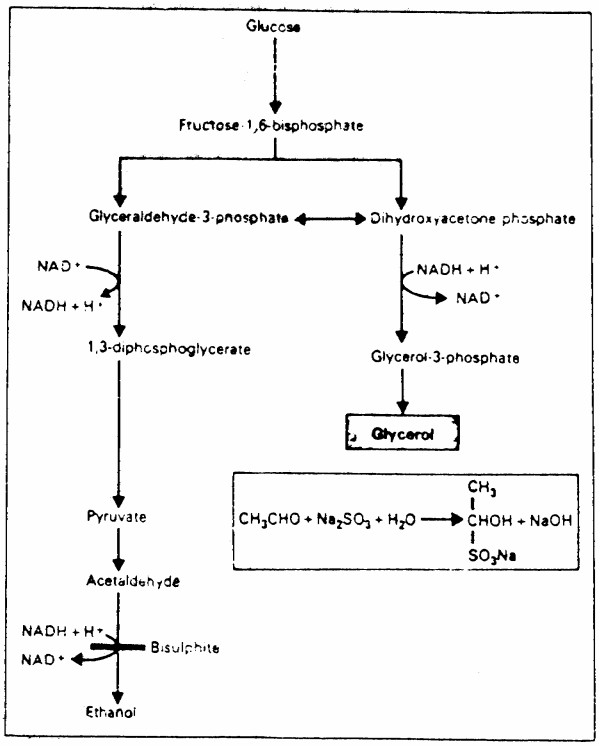
اتانول اولین ماده شیمیایی بود که با استفاده از میکروارگانیسمها تولید گشت. تا حدود پیش از یک قرن قبل هنوز نقش میکروارگانیسمها در تولید الکل شناخته نشده بود و این موضوع زمانی کشف شد که گروهی از تجار فرانسوی که می‌خواستند مانع از ترش شدن مایعات الکلی، حین حمل و نقل در مسافتهای طولانی با کشتی شوند از لوئی پاستور (Louis Pasteaur) تقاضای کمک نمودند. در آن زمان بسیاری از

دانشمندان براین باور بودند که هوا با تاثیر بر شکر موجود در مایعات الکلی باعث ترش شدن آنها می‌شود. لوئی‌پاستور با تحقیقات خود نشان داد که دسته‌ای از میکروارگانیسمها (مخمرها) در محیط های بدون اکسیژن شکر را به الکل تبدیل می‌نمایند. چنین فرآیند بی‌هوازی را تخمیر یا فرمانتاسیون (Fermentation) می‌نامند و چون اولین‌بار این اصطلاح برای نشان دادن تغییرات انجام شده توسط میکروارگانیسمها بکار رفت، این اصطلاح جنبه عمومی پیداکرد و برای کلیه فرآیندهای میکروبی بکار برده شد.

ترش شدن مایعات الکلی بدلیل تبدیل شدن آن توسط دسته دیگری از میکروارگانیسمها (باکتریهای اسیداستیک) به اسید استیک می‌باشد بنابراین می‌توان پاستور را اولین فردی شناخت که به نقش میکروارگانیسمها در تغییرات موادشیمیایی پی‌برد.

جنگ جهانی اول و ظهور بیوتکنولوژی

بجز تولید الکل، بیوتکنولوژی از دوران پیش از مسیحیت تا اویل قرن بیستم تغییرات اندکی داشت و همانند بسیاری از علوم دیگر، انگیزه‌های اولیه پیشرفت این علم با جنگ جهانی اول آغاز شد. در آغاز جنگ جهانی اول نیروی دریایی انگلستان با مسدود نمودن راههای دریایی، از وارد شدن روغنهای



شکل ۱- مسیرهای بیوشیمیایی تبدیل گلوکوز به‌اتانول‌توسط مخمرها. در صورت افزودن بی‌سولفیت سدیم به محیط کشت تولید اتانول مهار شده و بجای آن استالدئید و گلسیرول تولید می‌شود.

▣ یکی از دستاورهائی که کشف و تولید پنی‌سیلین برای بیوتکنولوژی به همراه داشت، بسط و توسعه روشهای گزینش نژادهای مؤثر بود.

نباتی به آلمان که برای تولید گلسیرول و ساخت مواد منفجره ضروری بود جلوگیری به عمل آورد و در نتیجه آلمانیها شروع به تولید میکروبی گلسیرول نمودند (شکل ۱) بطوریکه قادر بودند در ماه بیش از هزارتن گلسیرول میکروبی تولید نمایند.

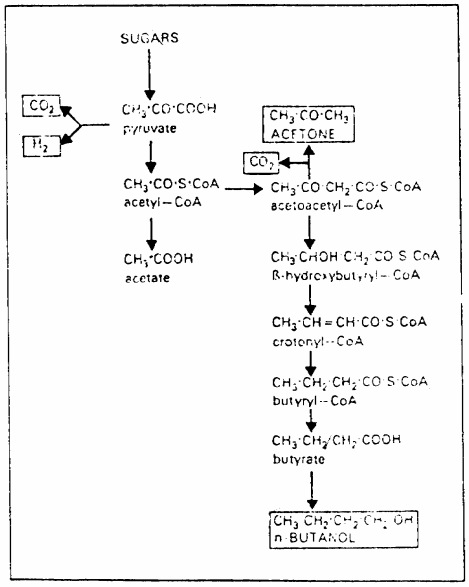
درعوض آلمانیها نیز مانع از صادرات استون و بوتانول که اولی برای جنگ‌افزار و دومی برای تولید لاستیک مصنوعی ضروری بود، شدند و در نتیجه انگلیسیها نیز ناگزیر به توسعه روشهای میکروبی برای تولید استون و بوتانول از راههای میکروبی و با استفاده از کلستریدیوم‌استوبوتیلیکوم (Clostridium. Acetobutylicum) شدند. (شکل ۲)

تولید اسیدسیتریک با استفاده از میکروارگانیسمها که هنوز هم به‌طور وسیعی در تمام دنیا انجام می‌پذیرد آغازش به جنگ جهانی اول بازمی‌گردد. تا قبل از آن اسیدسیتریک از مرکبات استخراج می‌شد و تولیدکننده اصلی آن ایتالیا بود. زمانیکه مردان به جنگ فراخوانده شدند باغات مرکبات بدون مراقب رها گردیدند. در پایان جنگ، صنایع تولید اسیدسیتریک مانند بسیاری از صنایع دیگر منهدم و نابود شده بودند و قیمت اسیدسیتریک نیز افزایش یافته بود و این امر راه را برای تولید آن توسط یک فرآیند میکروبی در سال ۱۹۲۳ هموار نمود. برخلاف کلستریدیوم استوبتیلیکوم، میکروارگانیسم بکاربرده شده برای تولید اسیدسیتریک، آسپرژیلوس نیجر (Aspergillus Niger) یک قارچ هوازی اجباری بود و باید در حضور اکسیژن کشت داده می‌شد. ابتدا کشت را در مقیاس بزرگ از طریق تلقیح نمودن قارچ در محیط مایع و در ظروف فلزی کم‌عمق و فراهم نمودن امکان رشد قارچ در سطح انجام می‌دادند.

بعدها این روش کشت سطحی (Surface Culture) را از طریق جذب محیط مغذی روی یک تکیه‌گاه گرانولار ساکن بهبود بخشیدند.

پنی‌سیلین و تولید مواد اولیه شیمیایی

پنی‌سیلین، که شاید بتوان کشف آن را اتفاقی بزرگ و نقطه عطفی در بیوتکنولوژی دانست، نامی بود که توسط فلمینگ (Fleming) به مواد ضدباکتری تولید شده توسط کپک پنی‌سیلیوم نوتاتوم (Penicillium Notatum) اطلاق گردید. اهمیت این کشف به عنوان تقریباً اولین ماده‌ای که قادر به درمان



شکل ۲ - مسیرهای بیوشیمیایی تبدیل قندها به استون و بوتانول توسط کلستریدیوم استوبوتیلیکم

▣ ترش شدن مایعات الکلی به دلیل تبدیل شدن آن توسط دسته دیگری از میکروارگانیسمها به اسیداستیک می‌باشد. بنابراین می‌توان پاستور را اولین فردی شناخت که به نقش میکروارگانیسمها در تغییرات مواد شیمیائی پی‌برد.

بسیاری از مجروحین جنگی بود کشوری در حال جنگ هرگز فراموش نخواهد شد. پنی‌سیلیوم نوتاتوم نیز مانند آسپرژیلوس نیجر یک کپک هوازی اجباری بود و بنابراین می‌بایست به صورت سطحی کشت داده می‌شد. اینکار نه تنها پرمشقت و بسیار پرهزینه بود بلکه کشت‌ها نیز مستعد آلودگی بودند که این امر بازده پنی‌سیلین را کاهش می‌داد. ضرورت و نیاز کار در شرایط استریل منجر به اختراع راکتورهای مخزنی همزن‌دار (فرمانتور Fermentor) شد که تا به امروز به عنوان برترین روش کشت میکروبها در مقیاس بزرگ به شمار می‌رود. تمامی تجهیزات چنین فرمانتورهایی پیش از تلقیح میکروارگانیسم با استفاده از بخار آب و تحت فشار استریل می‌شوند و به منظور فراهم نمودن اکسیژن کافی برای رشد میکروارگانیسم تولید محصول، هوای استریل به داخل فرمانتور دمیده شده و با همزدن محیط کشت در سرتاسر آن پخش می‌شود.

دومین ارمغانی که کشف و تولید پنی‌سیلین برای بیوتکنولوژی بهمراه داشت، بسط و توسعه روشهای گزینش نژادهای موثر بود. کشت پنی‌سیلیوم‌نوتاتوم اولیه فقط به میزان ۲ میلی‌گرم در هر لیتر مایع کشت بازده داشت اما با بررسی و آزمایش انواع متفاوت و گوناگون پنی‌سیلیومهای جدا شده از خاک، یک نوع پرمحصول به نام پنی‌سیلیوم کریزوژنوم (P.Chrysogenum) شناسایی شد. در تلاش برای بهبود هرچه بیشتر تولید پنی‌سیلین، پنی‌سیلیوم کریزوژنوم را تحت تاثیر مواد جهش‌زایی گوناگونی از قبیل نیتروژن موستارد، اشعه ماوراءبنفش و اشعه X قرار دادند. بعد از هر دور جهش‌زایی بازماندگان را مورد بررسی و آزمایش قرار می‌دادند. و آن دسته را که براثر جهش تولیدشان بالاتر رفته بود جدا نموده و در معرض بعدی جهشها قرار می‌دادند. با تلفیق روشهای پیشرفته کشت توام با استفاده از گونه‌های جهش یافته تولید پنی‌سیلین به بیش از ۲۰ گرم در لیتر افزایش یافته است.

توانایی میکروبها در تولید آنتی‌بیوتیکها مدتها قبل از کشف پنی‌سیلین نیز معلوم و شناخته شده بود اما بدان توجه کمی می‌شد. از موقعیکه به کاربرد پنی‌سیلین پی‌برده شد، شرکتهای داروسازی توجه زیادی به آنتی‌بیوتیکها نمودند و تجسس خود را برای یافتن میکروارگانیسمهایی که قادر به تولید آنتی‌بیوتیکهای جدید می‌باشند، آغاز نمودند. اولین آنتی‌بیوتیکی که بعد از پنی‌سیلین کشف شد استرپتومایسین بود که از استرپتومایسس گریزئوس (Streptomyces Griseus) بدست آمد و وارد درمان شد. بعد از کشف استرپتومایسین نشان داده شد که بسیاری از باکتریهای رشته‌ای (Filamentous) موجود در خاک بنام اکتینومایستها (Actinomycetes) گروهی از استرپتومایسس گریزئوس نیز بدان تعلق دارد، قادر به تولید صدها آنتی‌بیوتیک مختلف می‌باشند بطوریکه ۹۰٪ از آنتی‌بیوتیکهای موجود بازار دارویی از آنها بدست می‌آید.

آنتی‌بیوتیکها تنها محصولات داروئی نیستند که از

میکروارگانیسمها بدست می‌آیند. میکروارگانیسمها قادر به تولید طیف بسیار وسیعی از مواد دارویی می‌باشند (جدول ۱).

هرچند که بسیاری از این مواد را می‌توان با روشهای شیمیایی نیز تولید نمود ولی تولید آنها با استفاده از میکروارگانیسمها بسیار کم هزینه‌تر

دسته دارویی	میکروارگانیسم تولیدکننده
۱- آنتی‌بیوتیکها	
پنی‌سیلینها	Penicillium Chrysogenum
سفالسپورینها	Cephalosporium acremonium
تتراسیکلین	Streptomyces aureofaciance
اکسی تتراسیکلین	Streptomyces rimosus
استرپتومایسین	Streptomyces griseous
جنتامایسین	Micromonospora Purpurea
کانامایسین	Streptomyces Kanamyciticus
۲- ضد سرطانها	
اکتینومایسین	Streptomyces antibioticus
دانوروبیسین	Streptomyces Peucetius
آدریامایسین	Streptomyces Peucetius
سیکلوسپورین	Tolypocladium inflatum
۳- ویتامینها	
ویتامین B_2	Ashbya gossypii
ویتامین B_{12}	Propionibacterium Shermanii
پیشتاز ویتامین C (سوربوز)	Gluconobacter Suboxydan
۴- آنزیمها	
ال - آسپارژیناز	Esheirchia coli و Erwinia caratovora
استرپتوکیناز	
پروتئازها	Aspergillus SP Bacillus SP
& - آمیلاز	Aspergilus oryzae Bacillus licheniformis

جدول ۱- بعضی ازمتابولیتهای میکروبی که دارای کاربرد در پزشکی و داروسازی هستند.

▣ اگر چه تعداد زیادی از محصولات مفید را می‌توان از کشت باکتریها بدست‌آورد ولی این محصولات محدود به موادی هستند که بطور طبیعی در میکروارگانیسمها تولید می‌شوند.

می‌باشد. بسیاری از مواد موجود در جدول (۱) محصولات مستقیم میکروارگانیسمها هستند و در بسیاری دیگر نیز واکنشهای میکروبی نقش حساسی را بازی می‌کنند که در آینده راجع به روشهای تولید هرکدام از آنها مقالات مفصلی را ارائه خواهیم نمود.

مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی نوین

یکی از دلایل عمده‌ای که باعث شده است بیوتکنولوژی در سالهای اخیر توجه زیادی را به خود جلب نماید بدلیل کلون کردن ژنها می‌باشد. اگرچه تعداد زیادی از محصولات مفید را می‌توان از کشت باکتریها بدست آورد، ولی این محصولات محدود به موادی هستند که بطور طبیعی در میکروارگانیسمها تولید می‌شوند . تعداد بسیاری از مواد دارویی توسط میکروارگانیسمها تولید نمی‌شوند بلکه بوسیله سلولهای حیوانی و یا گیاهی تولید می‌شوند. علی‌رغم اینکه در دو دهه اخیر پیشرفتهای زیادی برای کشف سلولهای حیوانی و گیاهی بدست آمده است ولی هنوز هم نمی‌توان آنها را با روشهای فوق تولید نمود، و تنها راه تولید کردن چنین موادی کلون کردن ژن آنها در میکروارگانیسمها می‌باشد و توانایی بشر برای انجام چنین امری که به آن مهندسی ژنتیک گویند، بیوتکنولوژی را در دهه اخیر کاملاً متحول کرده است. کلون کردن ژن به این معنا می‌باشد که ابتدا باید ژن تولید کننده ماده خاصی را از سلول تولیدکننده آن جدا نمود و سپس آن را وارد حاملهای مناسبی برای انتقال درداخل سلول‌میزبان‌نمودکه‌به‌این‌عمل‌اتصال‌دو DNA با منشاء متفاوت، نوترکیبی (Recombinant DAN) DNA گفته می‌شود. اگر چنین ملکول DNA نوترکیبی را وارد سلول میزبان مناسبی از قبیل باکتری نمائیم و تمام اعمال بطرز صحیحی انجام پذیرد سلول میزبان جدید قادر به تولید پروتئینی خواهد بود که ژن آن را با حامل واردش نموده‌ایم.

بطور تئوری با این روش می‌توان هر پروتئینی را با منشاء حیوانی و یا گیاهی توسط میکروارگانیسمها تولید نمود. اولین پروتئین داروئی که با این روش تولید شد انسولین بود که محصول آن در سال ۱۹۸۴ اجازه مصرف گرفت و بعد از آن نیز ترکیبات بسیار زیاد دیگری تولید شده‌اند که محصولات آنان نیز وارد بازار دارویی شده است و یا در حال وارد شدن می‌باشد (جدول ۲) و بسیاری از مواد دیگر نیز دست بررسی برای تولید با چنین روشهای می‌باشند و بطور قطع در چند سال آینده محصولات بسیار متنوعی که عموماً دارای منشاء طبیعی می‌باشند و به وسیله روشهای مهندسی ژنتیک تولید می‌شوند، مورد استفاده در پزشکی قرار خواهند گرفت و درمان بسیاری از بیماریها با استفاده از چنین داروهایی دچار تغییرات عمده‌ای خواهد شد. با توجه به تفاصیل فوق آشنایی داروسازان و پزشکان با چنین داروهایی بسیار ضروری بنظر می‌رسد بنابراین در مقالاتی که از این به بعد تحت عنوان بیوتکنولوژی خواهیم داشت بسیاری از این داروها و روشهای تولید آنها مورد بحث قرار خواهند گرفت ولی قبل از وارد شدن به مبحث تولید داروها از شماره آینده مقالاتی در مورد اصول مهندسی ژنتیک بطور بسیار مختصر برای آشنایی بیشتر همکاران پزشک و داروساز خواهیم داشت.

Protein	Application	Current status
Human growth hormone (Somatotropin)	Pituitary dwarfism	Approved for sale
Human insulin	Diabetes	Approved for sale
Interferon - a2b	Hairy cell leukaemia, genital warts and other applications	Approved for sale
Interferon - a2a	Hairy cell leukaemia, Kaposi's sarcoma and other applications	Approved for sale
Erythropoietin	Anaemia associated with Kidney dialysis and AZT treatment of AIDS	Approved for sale
Tissue plasminogen activator	Myocardial infarction	Approved for sale
Hepatitis B coat protein	Vaccination	Approved for sale
Granulocyte colony Stimulating factor	Neutropenia arising from cancer chemotherapy	Approved for sale
Interleukin-2	Cancer therapy	Approved for sale
Consensus interferon	Cancer therapy	Late clinical trials
Interferon -	Rheumatoid arth ritis and cancer therapy	Late clinical trials
Interferon - ß	AIDS therapy	Late clinical trials
Superoxide dismutase	Free radical damage of reperfusion, renal transplants	Late clinical trials
Factor VIII	Haemophilia	Late clinical trials
Lung surfactant protein	Respiratory distress syndrome	Late clinical trials
Tumour necrosis factor	Cancer therapy	Clinical trials
Epidermal growth factor	Healing of ulcers	Clinical trials
Fibroblast growth factor	Healing of ulcers	Clinical trials
Relaxin	Facilitation of Childbirth	Early clinical trials

جدول ۲- بعضی از پروتئینهای انسانی که دارای کاربردهای درمانی هستند و بوسیله روشهای مهندسی ژنتیک تولید شده‌اند.