



دکتر مجتبی طباطبائی یزدی

دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی تهران

بیوتکنولوژی و کاربردهای آن در پزشکی و داروسازی

بیوتکنولوژی اختصاص داده شود. در این بخش سعی بر این 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 به طور بسیار مختصر اشاره خواهیم داشت.

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 می کرده 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 می شده 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 یا کشتی شونداژ لوئی پاستور (Louis Pasteur) تقاضای کمک نمودند. در آن زمان بسیاری از

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 شیمی دارویی و فارماکولوژی 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 به طور 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 بنا به دعوت مدیر مسئول محترم مجله رازی قرار بر این شده است که در مجله رازی بخشی به

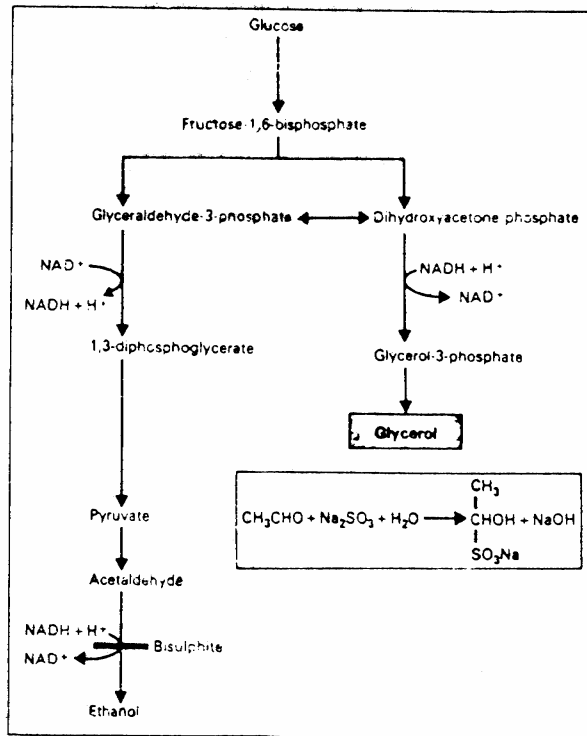
□ اتانول اولین ماده شیمیایی بود که با استفاده از میکروارگانیسمها تولید گشت.

توسط دسته دیگری از میکروارگانیسمها (باکتریهای اسیداستیک) به اسید استیک می‌باشد بنابراین می‌توان پاستور را اولین فردی شناخت که به نقش میکروارگانیسمها در تغییرات مواد شیمیایی پی برد.

جنگ جهانی اول و ظهور بیوتکنولوژی

بعز تولید الکل، بیوتکنولوژی از دوران پیش از مسیحیت تا اوایل 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

دانشمندان بر این باور بودند که هوا با تاثیر بر شکر موجود در مایعات الکلی باعث ترش شدن آنها می‌شود. لوئی پاستور با تحقیقات خود نشان داد که دسته‌ای از میکروارگانیسمها (مخمرها) در محیط‌های بدون اکسیژن شکر را به الکل تبدیل می‌نمایند. چنین فرآیندی هوازی را تخمیر یا فرمانتاسیون (Fermentation) می‌نامند و چون اولین بار این اصطلاح برای نشان دادن تغییرات انجام شده توسط میکروارگانیسمها بکار رفت، این اصطلاح جنبه عمومی پیدا کرد و برای کلیه فرآیندهای میکروبی بکار برده شد. ترش شدن مایعات الکلی بدلیل تبدیل شدن آن



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

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

(*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.

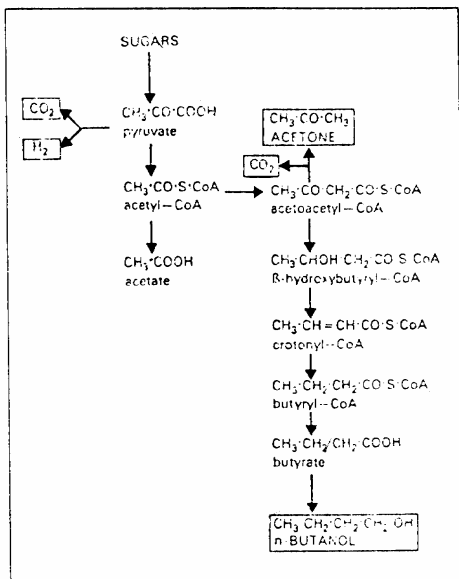
پنی‌سیلین و تولید مواد اولیه شیمیایی

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

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

در عوض آلمانها نیز مانع از صادرات استون و بوتانول که اولی برای جنگ‌افزار و دومی برای تولید لاستیک مصنوعی ضروری بود، شدند و در نتیجه انگلیسها نیز ناگزیر به توسعه روشهای میکروبی برای تولید استون و بوتانول از راههای میکروبی و با استفاده از کلسترییدیوم استوتوبوتیلیکوم (*Clostridium Acetobutylicum*) شدند. (شکل ۲)

تولید اسیدستیریک با استفاده از میکروارگانیسمها که هنوز هم به‌طور وسیعی در تمام دنیا انجام می‌پذیرد آغازش به جنگ جهانی اول بازمی‌گردد. تا قبل از آن اسیدستیریک 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 اسیدستیریک مانند بسیاری از صنایع دیگر منهدم و نابود شده بودند و قیمت اسیدستیریک نیز افزایش یافته بود و این امر راه را برای تولید آن توسط یک فرآیند میکروبی در سال ۱۹۲۳ هموار نمود. برخلاف کلسترییدیوم استوتوبوتیلیکوم، میکروارگانیسم بکاربرده شده برای تولید اسیدستیریک، *آسپرژیلوس نیجر*



شکل ۲- مسیرهای بیوشیمیایی تبدیل قندها به استون و بوتانول توسط کلسترییدیوم استوتوبوتیلیکوم

■ 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.

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 بر اثر 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 دارویی نیستند که از

بسیاری از معروحن جنگی بود کشوری در حال جنگ هرگز فراموش نخواهد شد. پنی‌سیلیوم نوتاتوم نیز مانند اسپرئیلوس 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 (فرماتور *Fermentor*) شد که تا به امروز به عنوان برترین روش کشت میکروبها در مقیاس بزرگ به شمار می‌رود. تمامی تجهیزات چنین فرماتورهایی 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 فرماتور 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 پنی‌سیلیوم نوتاتوم 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

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

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

| میکروارگانیسم تولیدکننده | دسته دارویی |
|--------------------------------------|--------------------------|
| | ۱- آنتی بیوتیکها |
| Penicillium Chrysogenum | پنی سیلینها |
| Cephalosporium acremonium | سفالسپورینها |
| Streptomyces aureofaciens | تتراسیکلین |
| Streptomyces rimosus | اکسی تتراسیکلین |
| Streptomyces griseus | استرپتومايسين |
| Micromonospora Purpurea | جتتامایسین |
| Streptomyces Kanamyceticus | کانامایسین |
| | ۲- ضد سرطانها |
| Streptomyces antibioticus | اکتینومايسين |
| Streptomyces Peucetius | دانوروبیسین |
| Streptomyces Peucetius | آدریامایسین |
| Tolypocladium inflatum | سیکلوسپورین |
| | ۳- ویتامینها |
| Ashbya gossypii | ویتامین B ₂ |
| Propionibacterium Shermanii | ویتامین B ₁₂ |
| Gluconobacter Suboxydan | پیشاز ویتامین C (سوربوز) |
| | ۴- آنزیمها |
| Esheirchia coli و Erwinia caratovora | ال - آسپارژیناز |
| Aspergillus SP | استرپتوکیناز |
| Bacillus SP | پروتازها |
| Aspergillus oryzae | & - آمیلاز |
| Bacillus licheniformis | |

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

□ اگر چه 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.

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 در داخل سلول میزبان نمود که به این عمل اتصال دو 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 دارویی 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 تفصیل 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 بحث 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 - β | 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.