اهمیت موجودات زنده‌ی تراژنی در زیست‌فناوری

فاطمه الستی (کارشناس ارشد پژوهشی)
محمدحسین صنعتی (استادیار پژوهشی)
مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی

در سال‌های اخیر، استفاده از موجودات زنده‌ی تراژن گیاهی و جانوری توجه محققان را جلب کرده است. حیوانات تراژن در تولید برخی فراورده‌های مورد نیاز انسان و در تحقیقات بنیادی زیست‌شناسی مولکولی، از جمله مطالعه‌ی عملکرد و چگونگی تنظیم فعالیت ژن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه، پپتیدها و پروتیین‌های متعددی ازجمله فعال‌کننده‌ی پلاسمینوژن، عامل VIII انعقاد خون، کلسیتونین، هورمون رشد و کلاژن در شیر و برخی پروتیین‌ها در ادرار حیوانات تراژن تولید شده است. گیاهان تراژن برای تولید پروتیین‌های نوترکیبی که عمدتاً مورد نیاز خود گیاه هستند و آن را در مقابل برخی فشارهای محیطی و یا انواع آفات از جمله برخی ویروس‌ها، کرم‌ها و حشرات مقاوم می‌کنند و یا برای تولید پروتیین‌های غیرخودی نظیر واکسن یا پادتن‌های مورد نیاز انسان و حیوانات استفاده می‌شوند. با توجه به آثار بی‌شمار این فناوری در میدان‌های مختلف علمی، پژوهشی، اقتصادی، و اجتماعی توسعه‌ی این فناوری و پیداکردن راهکارهای استفاده‌ی عملی و کاربردی از آنها، ازجمله ضروریات است.

مقدمه

استفاده از موجودات زنده در تولید فراورده‌های زیستی مورد نیاز انسان ازجمله مباحث مهم زیست‌فناوری[1] در چند سال اخیر است. در اوایل دهه‌ی ۱۹۸۰ استفاده از ریزاندامگان[2] نوترکیب، به‌عنوان «واکنشگر زیستی»[3] برای تولید برخی مواد حیاتی رایج شد. اگرچه استفاده از باکتری‌ها در تولید پروتیین‌های ساده موفقیت‌آمیز بود، برای تولید پروتیین‌های پیچیده‌تر از کشت بافت، که فناوری بسیار پرهزینه‌یی بود، استفاده شد؛ به گونه‌یی که ساخت یک گرم پروتیین نوترکیب حدود ۱۰۰۰ دلار هزینه داشت. از این رو، استفاده از موجودات عالی تراژنی[4] به‌عنوان واکنشگر زیستی رایج شد.[1] مبنای ایجاد این فناوری و توسعه‌ی آن، نتایج تحقیقات انجام شده توسط جنین‌شناسان روی فیزیولوژی جنین موش، توسعه‌ی دانش مهندسی ژنتیک و امکان دست‌ورزی ژنتیکی بوده است.[2]

اولین موش تراژن در سال ۱۹۸۰ توسط گوردون[5] ساخته شد و به‌دنبال آن، چهار گروه تحقیقاتی دیگر نیز به تولید حیوانات حامل یک ژن خارجی اشاره کردند. نتایج این تحقیقات نشان داد که در سلول جنینی، در همان مراحل اولیه‌ی تمایز، DNA خارجی به ژنوم میزبان وارد می‌شود. در سال ۱۹۸۲، پالمیتر[6] ژن هورمون رشد انسانی را به پروموتور متالوتیونین متصل و به سلول تخم موش وارد کرد. در پی آن، فناوری تراژن به حیوانات اهلی تعمیم داده شد؛ به گونه‌یی که تا سال ۱۹۸۵ خرگوش، گوسفند، خوک و در سال ۱۹۸۹ گاو تراژن ساخته شد.[2]

هرچند تحقیقات پیرامون توسعه‌ی فناوری تراژن ابتدا بر حیوانات متمرکز بود، این فناوری به سرعت به گیاهان نیز تعمیم یافت. امروزه از گیاهان ــ که پیش‌تر تنها به‌عنوان غذا، سوخت و فیبر مصرف می‌شدند ــ به‌عنوان یک سیستم زیستی تولیدکننده‌ی بسیاری از داروها و زیرواحدهای واکسنی استفاده می‌شود.[3] البته گیاهان در تولید فراورده‌های غیر پروتیینی نیز کاربرد دارند. مثلاً محققان مؤسسه‌ی Agrecetus در حال تهیه‌ی کتانی هستند که فیبرهای ترکیبی کتان ـ پلی‌استر تولید کند. محققان همچنین برای ساخت گیاهانی با قابلیت تولید پلاستیک‌های قابل تجزیه ــ توسط ریزاندامگان ــ و روغن‌های مورد نیاز در صنعت تلاش می‌کنند.[4] ذکر این نکته لازم است

که گسترش سریع تولید محصولات تراژن گیاهی مدیون پیشرفت تحقیقات پایه‌یی در زیست‌شناسی مولکولی و فیزیولوژی، تنوع روش‌های انتقال ژن به گیاهان و توسعه‌ی روش‌های کشت بافت گیاهی است.[۵] در ادامه، به برخی از کاربردهای فناوری تراژن اشاره می‌شود:

حیوانات تراژنی

برای تولید یک حیوان تراژن، DNA مورد نظر مستقیماً به هسته‌ی جنین تک‌سلولی آن حیوان تزریق و سپس به داخل ماده‌ی ژنتیکی سلول میزبان وارد می‌شود. حیوان تراژن، از آنجا که DNA خارجی در کلیه‌ی بافت‌های بدنش مشاهده می‌شود، می‌تواند این ماده‌ی ژنتیکی جدید را به فرزندانش منتقل کند. برای اطمینان از ورود ژن خارجی به ژنوم میزبان و تبعیت آن از قوانین مندلی معمولاً انتقال ژن طی چند نسل بررسی می‌شود.[۶]

در مراحل مختلف تولید یک موجود زنده‌ی تراژنی ــ اعم از گیاه و حیوان ــ آزمایش‌های زیست‌شناسی مولکولی متعددی برای تعیین وجود تراژن در ماده‌ی ژنتیکی میزبان، تعیین تعداد نسخه ژن خارجی، بررسی بروز[۷] آن و سرانجام جست‌وجوی پروتیین نوترکیب ابراز شده مورد استفاده قرار می‌گیرد. نکته‌ی بسیار مهم در این زمینه تنظیم محل بروز تراژن است. با استفاده از پروموتورهای اختصاصی بافت، بروز ژن مورد نظر در یک بافت ویژه صورت می‌گیرد. مثلاً اتصال پروموتور ژن انسولین به یک تراژن، سبب ساخت آن پروتیین در لوزالمعده می‌شود.[۷] برخی کاربردهای حیوانات تراژنی عبارتند از:

الف) کاربرد در تحقیقات بنیادی زیست‌شناسی مولکولی

فناوری تراژن ابزار مهمی برای مطالعات اساسی از جمله بررسی سازوکار بیماری‌های ژنتیکی و مطالعه‌ی عملکرد ژن‌ها و چگونگی تنظیم فعالیت آنهاست. استفاده از حیوانات تراژن به‌عنوان مدلی برای بررسی اثر سمیّت برخی داروها و مواد شیمیایی خاص بر برخی ژن‌ها نیز رایج است. انتقال یک انکوژن یا یک ژن ترمیمی DNA به سلول تخم بارور شده و تأثیر یک ماده‌ی شیمیایی ویژه بر حیوان تراژن نمونه‌هایی از این کاربرد است. امروزه با استفاده از این فناوری برای ژن‌های مهمی نظیر p53، ras و برای بیماری‌هایی نظیر X.P. مدل‌هایی ساخته‌اند. افزایش ساخت یک انکوژن در بافت ویژه‌یی از حیوان، اطلاعات وسیعی درخصوص عملکرد آن ژن و طبیعت حوادثی که در تشکیل تومورهای بدخیم مؤثرند به محققان می‌دهد.[۸و۲]

در سال ۱۹۹۷، دانشمندان ژن هورمون رشد انسانی را تحت کنترل پروموتور hsp70، به موش منتقل و مواد سمی غیر آلی مانند ارسنیک و فلزهای سنگین را به حیوان تزریق کردند. در پاسخ به این فشار مقدار زیادی هورمون رشد به خون ترشح شد. hspها خانواده‌ی بزرگی از پروتیین‌ها هستند که بروز آنها نه‌تنها هنگام تغییر دمای بدن، بلکه در برابر هر نوع فشاری، افزایش می‌یابد. این تحقیق برای بررسی شرایط فعال‌شدن بروز پروموتورهای نوع hsp، مدل مناسبی است.[۹]

فناوری تراژن برای درک بهتر بیماری‌زایی، تشخیص و درمان «بیماری‌های مخرب سیستم عصبی[۸]» نیز استفاده می‌شود. مثلاً تاکنون در نوع ارثی بیماری آلزایمر[۹] سه ژن شناسایی شده که از بین آنها بر روی ژن APP بسیار کار شده است. این ژن را در موش به‌صورت کامل یا جزئی حذف می‌کنند، سپس جهش‌های متفاوتی در ژن APP انسانی ایجاد کرده، آن را به سلول‌های تخم بارورشده‌ی موش وارد و وضعیت پلاک‌های مغزی آمیلوئیدی را در حیوان تراژنی بررسی می‌کنند. بیماری دیگری که محققان به آن توجه داشته‌اند، «هانتینگتون[۱۰]» است. در برخی ژن‌ها، تکرارهایی از توالی سه‌نوکلئوتیدی CAG دیده می‌شود که در برخی بیماری‌ها، گاهی تعداد این تکرارها افزایش یافته است. مثلاً در ژن هانتینگتون طبیعی ــ که بر کروموزوم شماره‌ی ۴ قرار دارد ــ این توالی ۶ تا ۳۷ بار، و در نوع بیماری آن ۳۵ تا ۱۲۱ بار به‌صورت متوالی تکرار شده است. محصول پروتیینی این ژن در حالت بیماری، دارای تعداد زیادی پلی‌گلوتامین است و عملکرد مناسبی ندارد. موش تراژنی با ۱۱۵ تا ۱۵۰ بار تکرار CAG در اکسون شماره ۱ ژن هانتینگتون ساخته شده است که در آن علائم بالینی نظیر ناهنجاری‌های حرکتی، کاهش اندازه‌ی مغز و وزن بدن مشاهده شد. وجود این مدل‌های حیوانی کمک بسیاری به درک بهتر سازوکارهای مولکولی ونقش پلی‌گلوتامین درمرگ نرون‌ها می‌کند.[۱۰]

ب) ترشح برخی از فراورده‌های مورد نیاز انسان در شیر

حدود ۱۰ سال است که از غدد شیری به‌عنوان واکنشگرهای زیستی استفاده می‌شود. امروزه، اولین داروهای استخراجی از شیر بز و گوسفند تراژنی، مراحل تأیید کلینیکی را می‌گذرانند. استفاده از پروموتورهای خاص پروتیین‌های شیر ــ نظیر بتا-کازئین یا بتا-لاکتوگلوبولین ــ موجب بروز یک ژن خارجی در غدد شیری می‌شود. اتصال یکی از این پروموتورها به cDNA یا توالی کامل ژن رمزکننده‌ی پروتیین مورد نظر و تزریق ژن هیبریدی به دست آمده به سلول تخم بارورشده، حیوان تراژنی به وجود می‌آورد که پروتیین نوترکیب در سلول‌های اپی‌تلیال غدد شیری آن، ساخته و ترشح می‌شود.[۱۱] در صورت نیاز به خالص‌سازی پروتیین ابراز شده در شیر، روش‌های آن به‌طور کامل تعیین شده‌اند.[۱۲]

پپتیدها و پروتیین‌هایی که امروزه در شیر حیوانات تراژن ساخته

شده‌اند عبارت‌اند از:

ـ فعال‌کننده‌ی پلاسمینوژن: cDNA رمزکننده‌ی فعال‌کننده‌ی پلاسمینوژن انسانی تحت کنترل پروموتور یکی از ژن‌های پروتیین‌های شیر، ابتدا در موش و سپس در سال ۱۹۹۱ در بز ابراز شد. این پروتیین ساخته شده در شیر، فعالیت زیستی داشت و هیچ اشکالی برای سلامت حیوان میزبان ایجاد نکرد.[۱۱]

ـ عامل VIII انعقاد خون: طی ۴۰ سال اخیر بیماران هموفیلی به‌وسیله‌ی پلاسما، و اخیراً با عامل VIII خالص شده از پلاسما، درمان می‌شوند که احتمال انتقال انواع ویروس‌ها از پلاسمای دهنده به بیماران وجود دارد. در فاصله‌ی سال‌های ۱۹۷۷ تا ۱۹۸۵ بیش‌از ۵۰درصد بیماران هموفیلی درمان شده با این عامل، به ویروس ایدز آلوده بودند. البته از سال ۱۹۸۴ به بعد خون‌های گرفته شده و کلیه‌ی مراحل خالص‌سازی عامل VIII از جنبه‌های ویروسی بررسی می‌شوند. در سال ۱۹۹۳ عامل VIII نوترکیبی، از سیستم‌های کشت سلول به دست آمد که ظاهراً ایمنی داشته است ولی در نهایت محققان به حیوانات تراژن روی آوردند.از ژن عامل VIII انسانی (۱۸۶ کیلو باز)، به علت بزرگی، به‌طور مستقیم استفاده نشد ولی cDNA عامل VIII در اولین اکسون ژن WAP ـ از ژن‌های مربوط به پروتیین‌های شیر ـ کلون شد. این عامل که در سال ۱۹۷۷ در شیر خوک تولید شد، فعالیت زیستی داشت و تغییرات پس از ترجمه، به‌درستی در آن صورت گرفته بود.[۱۱و۱۳]

ـ آلفا-۱- آنتی‌تریپسین: شرکت PPL هم‌اکنون گله گوسفندی را که می‌توانند آلفا-۱- آنتی‌تریپسین در شیر خود ترشح کنند در مزرعه‌یی در اسکاتلند پرورش می‌دهد. این پروتیین که برای درمان بیماری‌هایی نظیر فیبروز کیستی[۱۱] و خونروی[۱۲] کاربرد دارد، در بز نیز ساخته شده است.[۱۱و۱۳]

ـ کلسیتونین: فناوری ساخت مصنوعی پپتید بسیار گران است ؛ضمن آنکه نمی‌تواند تغییرات شیمیایی مورد نیاز فعال‌شدن پپتید را فراهم کند. کلسیتونین ـ که برای کنترل سوخت‌وساز کلسیم ضروری است در درمان بسیاری از امراض کاربرد دارد. توالی رمزکننده این پپتید را به ژن انسانی آلفا-۱-لاکتالبومین متصل و یک تراژن برای ساخت این پپتید در خرگوش تهیه کردند.[۱۴]

ـ هورمون رشد: محققان امریکایی در مریلند خوک‌هایی را تولید کردند که می‌توانند هورمون رشد انسانی بسازند. ساخت این هورمون باعث کاهش میزان چربی بدن این حیوانات و رشد سریع آنها شد.[۱۵]

ـ سایر پروتیین‌ها: ساخت آنتی‌ترومبین III در شیر بز، پروتیین C در شیر خوک و کلاژن نوع I در شیر موش نیز انجام شده است.

ج) ترشح یکی از فراورده‌های مورد نیاز انسان در ادرار

از همان ابتدا که برای تولید پروتیین از حیوانات تراژن استفاده شد، مایعات بدن از جمله خون، ادرار و شیر مورد توجه محققان بوده است. رابرت وال[۱۳] و همکارانش هورمون رشد انسانی را در سلول‌های پوششی مثانه‌ی موش تراژن تهیه کردند. در این تحقیق، از یک پروموتور اختصاصی مثانه برای هدایت بروز این هورمون در ادرار استفاده شد. از آنجا که معمولاً در ادرار پروتیین دیده نمی‌شود (مگر در بیماری‌های خاص)، خالص‌سازی پروتیین نوترکیب از ادرار نسبتاً راحت است. مزیت استفاده از ادرار ـ در مقایسه با شیر ـ این است که تنها حیوان ماده‌ی بالغ می‌تواند پروتیین خارجی در شیر تولید کند، در حالی که هر دو حیوان نر و ماده ـ در هر سنی ـ توانایی تولید پروتیین را دارند.[۱]

گیاهان تراژنی

تراژن گیاهی در دو مسیر فعال است:[۱۶]

۱ـ مسیر خودی: در این روش، پروتیین نوترکیب عمدتاً مورد نیاز خود گیاه است و آن را در مقابل انواع آفات از جمله قارچ‌ها، میکروب‌ها، و حشرات مقاوم می‌کند. به‌علت عدم نیاز به خالص‌سازی، معمولاً این پروتیین در کلیه‌ی اندام‌های گیاه ساخته می‌شود.

۲ـ مسیر غیر خودی: در این روش، گیاه مجبور به تولید یک پروتیین غیرخودی نظیر نوعی دارو، پادتن، یا واکسن است که خودش به آن نیازی ندارد. در این مسیر به منظور تسهیل خالص‌سازی آن پروتیین از گیاه، اغلب در بخشی از گیاه، مانند دانه یا میوه، انباشته می‌شوند. البته، اگر گیاه ارزش تغذیه‌یی برای انسان یا حیوان داشته باشد، تولید پروتیین در کلیه‌ی اندام‌های گیاه نیز امکانپذیر است.

اتصال ژن معروف گیاهی، GUS، به پروموتورهای مختلف و استفاده از آن به‌عنوان تراژن، نقش مهمی در بحث کنترل مقدار و محل بروز تراژن در گیاهان داشته است.[۱۷] مهم‌ترین کاربرد گیاهان تراژنی عبارتند از:

الف) تولید برخی از پروتیین‌های انسانی

محققان غالباً برای ساخت فراورده‌های انسانی از گیاه تنباکو استفاده کرده‌اند. مثلاً «گلوکوسربروزیداز» ـ که برای درمان «بیماری گوشه»[۱۴] استفاده می‌شود ـ و هموگلوبین انسانی در این گیاه تولید شده است[۱۸]، ولی شرکت Applied Phytologic نیز در کالیفرنیا، در حال ساخت بسیاری از محصولات مورد نیاز انسان در گیاه برنج است. این شرکت اولین مؤسسه‌یی است که از غلات برای این منظور استفاده کرده، و پروتیین آلفا-۱- آنتی‌تریپسین انسانی را در گیاه برنج تولید کرده است.[۱۹]

ب) مقاومت در برابر فشارهای محیطی

مقاومت در برابر فشارهای محیطی ویژگی‌های چندژنی هستند؛ اما درخصوص هر یک از مقاومت‌ها، یک ژن کلیدی‌تر عمل می‌کند. در ادامه به چند مورد از گیاهان تراژن مقاوم در برابر فشارهای محیطی اشاره می‌کنیم:

- در سال ۱۹۹۶ از یک ماهی خاص آب‌های شمال امریکا، ژنی جدا شد که با انتقال آن به سیب زمینی و گوجه فرنگی، مقاومت در برابر سرما به آن گیاه منتقل شد.[۲۰]
- امروزه محققان در حال تهیه‌ی گوجه فرنگی، خربزه و جو مقاوم به نمک در اسپانیا و انگلستان هستند که همگی از راه انتقال یک ژن تنظیمی نمک، به‌نام Hal-1، از مخمرها به کروموزوم‌های گیاه به دست می‌آیند. Hal-1 پمپ‌های یونی دیواره‌ی سلول را به گونه‌یی تغییر می‌دهد که خروج سدیم از داخل سلول، و ورود پتاسیم را به داخل آن ــ به‌طور همزمان ــ تسهیل می‌کند.[۲۱]
- گروهی از محققان، تنباکوی تراژنی ساخته‌اند که برای تولید آنزیم گلوتاتیون ـ S ـ ترانسفراز بسیار تواناست. این آنزیم که فعالیت گلوتاتیون پراکسیدازی دارد، باعث احیاء گلوتاتیون در گیاه می‌شود. همچنین در ایجاد مقاومت در برابر فشارهای محیطی، مقاومت جوانه‌ها نسبت به سرما، و نیز در گرفتن محصولات جانبی سمی که از احیاءِ لیپیدها در گیاهان تولید می‌شوند نقش بسزایی دارد.[۲۲]
- اکسیژن در سوخت و ساز تنفسی گیاهان، سوبسترای مهمی است. یک پاسخ ژنتیکی برای افزایش سوخت و ساز اکسیژن، در دنیای میکروب‌ها دیده شده است. باکتری گرم‌منفیِ هوازی Vitreoscilla، در محیط کشت با اکسیژن محدود، مقدار زیادی هموگلوبین خاص می‌سازد. این ژن از طریق کشت باکتری (آگروباکتریوم) به گیاه تنباکو وارد می‌شود. تنباکوی تراژن به‌دست آمده، که توان بروز تراژنِ هموگلوبینِ خاصی را داشت، رشد بسیار سریعی داشت و وزن خشک آن ۸۰ تا ۱۰۰ درصد بیشتر از گیاه کنترل فاقد تراژن بود. کلروفیل این گیاه ۳۰ تا ۴۰ درصد بیشتر از گیاه کنترل، و نیکوتین آن ۲۳ درصد بیشتر از گونه‌ی وحشی بود؛ و در صورت کمبود اکسیژن نیز رشد مناسبی داشت.[۲۳]

ج) مقاومت در برابر کرم‌های لوله‌یی[۱۵] و حشرات

سالانه ۱۰۰ میلیارد دلار محصولات کشاورزی توسط کرم‌های لوله‌یی ساکن در خاک، که به ریشه‌ی گیاهان آسیب می‌زنند، از بین می‌روند. دانشمندان هلندی از گیاه چغندر قندِ مقاوم در برابر کرم لوله‌یی، ژنی را جدا کرده‌اند که در صورت انتقال آن به سایر گیاهان، این صفت نیز منتقل می‌شود. امروزه، از این ژن در ساخت محصولات گیاهی مقاوم در برابر کرم‌ها استفاده می‌شود.[۲۴]

استفاده از گیاهان تراژنی مقاوم در برابر حشرات، در کاهش استفاده از حشره‌کش و آسیب‌های محیطی حاصل از آن بسیار مؤثر است. تاکنون ژن‌هایی که نسبت به حشرات مقاومند از منابع مختلف، از جمله انواع ریزاندامگان و برخی از حیوانات و گیاهان، به دست آمده‌اند. باسیل Thuringiensis که در بعضی خاک‌ها زندگی می‌کند، بهترین حشره‌کش است. این باکتری سموم پروتیینی می‌سازد که به حشره متصل شده و آن را از بین می‌برد. هر رده از این باکتری سم خاصی تولید کرده که نابودکننده‌ی حشره‌ی ویژه‌یی است. آفت اصلی برنج در آسیا دو نوع حشره است که امروزه برنج‌های تراژنی مقاوم به این حشرات ساخته شده است. در سال ۱۹۹۶ در آمریکا به‌طور وسیعی ذرت، کتان و سیب زمینی دارای این باسیل کشت شد. ژن‌های مقاوم به حشرات که از گیاهان عالی جدا شده‌اند، حاوی مهارکننده‌های مخمرهای گوارشی حشرات و لاکتین‌ها هستند. برخی از لاکتین‌ها به واسطه‌ی اتصال به سلول‌های پوششی سیستم گوارشی حشرات برای آنها مضرند.[۲۵و۲۶]

د) تولید واکسن

امروزه، در صنعت واکسن‌سازی، استفاده از پروتیین‌های ایمونوژنیک یک عامل بیماری‌زا، که بتواند پاسخ‌های ایمنی لازم را فراهم کند، مورد توجه محققان است؛ به این ترتیب که ژن‌های رمزکننده‌ی پروتیین‌های ایمونوژنیک در یک سیستم زیستی دیگر ابراز می‌شوند و در مرحله‌ی بعد ایمونوژن‌های حاصل خالص‌سازی و مصرف می‌شوند که به آنها زیرواحدهای واکسنی آن عامل بیماری‌زا گفته می‌شود.

زیرواحدهای واکسنی به دو طریق در گیاهان تولید می‌شوند. روش اول، انتقال گیاه با استفاده از حاملینی است که قطعات ژنتیکی آن عامل بیماری‌زا در آنها کلون شده است. در این روش کافی است توالی رمزکننده‌ی پروتیین ایمونوژنیک از ویروس یا باکتری بیماری‌زا جدا و به توالی‌های تنظیمی اختصاصی گیاه متصل شود و سپس به حامل مناسب منتقل و درنهایت به گیاه مورد نظر ما وارد شود. روش دوم، دست‌ورزی ویروس‌های بیماری‌زای گیاهی است؛ به گونه‌یی که توالی اپی‌توپ ویروس مورد نظر در ساخت واکسن، به ژنوم آن ویروس گیاهی وارد شده باشد.[۳] در این زمینه تحقیقاتی انجام گرفته است که به چند مورد آن اشاره می‌شود:

تولید واکسن‌های مورد نیاز انسان

پراکندگی جهانی بیماری هپاتیت B و ارتباط ویروس HBV با سرطان

کبد، اهمیت نیاز به یک واکسن ارزان و ایمن برای این بیماری را مطرح می‌کند. امروزه تولید واکسن هپاتیت در گیاهان تراژن مطرح شده است. پوشش پروتیینی این ویروس شامل سه پلی‌پپتید است. پادگن سطحی S این ویروس، در گیاه تنباکو ساخته شده است. در سال ۱۹۹۵ سیب‌زمینی نوترکیبی ساخته شد که قادر به تولید یک پادگن سطحی این ویروس بود. با خوراندن این سیب زمینی نوترکیب به موش، پاسخ ایمنی ایجاد شده بررسی شد. در سال ۱۹۹۷ دو پروتیین سطحی S و M ویروس هپاتیت، به‌شکل همجوش، درگیاه سیب‌زمینی تحت‌کنترل یک پروموتور ویروس موزائیک گل‌کلم ابراز شد.[۲۷] البته، از آنجا که سیب‌زمینی به‌صورت خام استفاده نمی‌شود و در صورت پختن نیز امکان تخریب واکسن آن وجود دارد، شاید واکسن مناسبی برای استفاده‌ی انسان نباشد. توسط محققان آمریکایی موز تغییر ژنتیکی یافته‌یی ساخته شد که توان بالایی در تولید پادگن‌های سطحی ویروس هپاتیت B داشت. محققان معتقدند که مصرف این موز به‌منظور واکسینه‌شدن در مقابل بیماری هپاتیت B از نظر هزینه برای کشورهای در حال توسعه، بسیار مناسب است.[۲۸]

نوکلئوتیدهای ۷۳۱ تا ۷۵۲ ژن رمزکننده‌ی پروتیین gp41 ــ که از پروتیین‌های ایمونوژن اصلی ویروس ایدز است ــ به یک ویروس گیاهی وارد شد و پس از آنکه حیوان، گیاه حامل این ویروس را خورد، پاسخ ایمنی بدنش بررسی شد که بسیار مناسب بود. در حال حاضر، محققان در حال تغییر این آزمایش به شیوه‌یی هستند که در انسان نیز قابل بررسی باشد.[۲۹]

تولید واکسن‌های مورد نیاز حیوانات

ــ هدف یک گروه تحقیقاتی، تولید واکسن در مقابل نوعی ویروس حیوانی، از خانواده‌ی ریزویروس‌ها، بود که برای این منظور توالی رمزکننده‌ی اپی‌توپ این ویروس را به داخل ژن رمزکننده‌ی پوشش پروتیینی یک ویروس بیماری‌زای گیاهی وارد و گیاه را با آن ویروس گیاهی آلوده کردند. سپس اپی‌توپ ویروس حیوانی مورد نظر نیز بر سطح پوشش پروتیینی ویروس گیاهی ساخته شد.[۳] خوردن این گیاه می‌تواند در حیوان ایجاد ایمنی کند.

ــ پروتیین‌های پوشه‌ی ویروس Norwalk ــ که باعث ناراحتی حاد معده در برخی حیوانات می‌شود ــ در تنباکو و سیب زمینی ساخته شده است. این سیب‌زمینی‌ها را به موش خورانده، و ساخت پادتن را بر علیه این ویروس بررسی کرده‌اند.[۱۶]

تولید واکسن‌های مقاوم کننده‌ی گیاهان در برابر ویروس‌های رایج گیاهی

برای این منظور از روش‌های گوناگونی استفاده می‌شود[۳۰]:

ــ استفاده از پروتیین‌های پوششی ویروس که در سال ۱۹۸۶ برای نخستین بار در خصوص ویروس موزائیک تنباکو تهیه شد. از عوامل بیماری‌زای شایع برنج، ویروس dwarf است که در گیاه برنج ایجاد بیماری با همین نام می‌کند. تحقیقات نشان داده‌اند که انتقال قطعه‌ی ۸ ژنوم این ویروس به کالوس به دست آمده از جنین برنج، سبب مقاومت گیاه به این ویروس می‌شود.[۳۱]

ــ استفاده از ژن‌های مربوط به همانندسازی ماده‌ی ژنتیکی عامل بیماری‌زا. از این شیوه برای مقاوم‌کردن گوجه فرنگی نسبت به ویروس Curl استفاده شد.

ــ استفاده از پروتیین‌های حرکتی ویروس‌ها که در پخش عمومی ویروس در کل گیاه نقش دارند.

ــ استفاده از antisense RNA که همانندسازی RNA ویروس را کاهش می‌دهد.

هـ) گیاهان تراژنی تولیدکننده‌ی پادتن‌ها

بررسی‌های اندرو هایت[۱۶] نشان داد که هزینه‌ی تولید پادتن در سیستم گیاهی پایین‌تر از سیستم هیبریدوما[۱۷] است. محققان بین پروتیین‌های غیر خودی که در گیاهان تولید می‌شوند، به «پادتن‌های منوکلونال[۱۸]» توجه بیشتری دارند. بزرگ‌ترین اندازه‌ی پادتنی که در باکتری تولید می‌شود، یک قطعه Fab یک‌ظرفیتی است درحالی که تولید پادتن‌های با طول کامل در گیاهان با موفقیت انجام شده است.[۴]

برای نخستین بار در سال ۱۹۸۹، پادتن با طول کامل 6D4 در تنباکو توسط اندرو هایت و همکارانش تولید شد. در سال ۱۹۹۰ ژن کژزاد رمزکننده‌ی زنجیره‌های سبک و سنگین پادتن B7-8 ساخته شد. این ژن کژزاد به توالی راهنمای ژن آلفا- آمیلاز و به یک پروموتور فعال گیاهی متصل و از طریق کشت باکتری به ژنوم تنباکو منتقل شد. در سال ۱۹۹۳ تنباکوی تراژن با قابلیت ساخت پادتن تک‌زنجیره‌یی بر علیه یک ویروس گیاهی ساخته شد. علت ساخت این پادتن به صورت تک‌زنجیره این بود که ترجیح می‌دادند به‌صورت پایدار در سیتوپلاسم بماند و برای ترشح به سمت شبکه‌ی آندوپلاسمی نرود. گیاهان را می‌توان به این روش در مقابل انواع ویروس‌ها و آفات مقاوم کرد. دانشمندان در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که مولکول‌های تک‌زنجیره‌یی فعال پادتن عمدتاً در دانه‌های گیاه تنباکو و نه در برگ‌های آن، ذخیره و انباشته می‌شوند. پادتن انباشته شده در دانه‌های تنباکو تا یکسال در دمای اتاق پایدار می‌ماند؛ حال آنکه ساخت پادتن‌های با طول کامل را تحت کنترل پروموتوری انجام می‌دهند که در ریشه‌ی تنباکو انباشته شوند.[۴]

استفاده از گیاهان تراژنی برای تولید پادتن‌های انسانی مورد نیاز

در ایمنی‌درمانی مورد توجه محققان است زیرا پادتن‌های ساخت گیاهان، از نظر انواع تغییرات پس از ترجمه، نسبت به آنچه میکروب‌ها می‌سازند، به سیستم انسانی نزدیک‌تر است. در سال ۱۹۹۴ تنباکوی تراژنی حامل ژن رمزکننده‌ی پادتن منوکلونال علیه پادگن سطحی یک باکتری استرپتوکوکی ــ که رایج‌ترین عفونت عامل پوسیدگی دندان است ــ ساخته شد. در سال ۱۹۹۶ گیاه آرابیدوپسیس تراژن با قابلیت سنتز IgG تولید شد که این گیاه مولکول‌های IgG را بین سلول‌های میان‌برگ[19] انباشت. آزمایش‌های ایمونوفلوئورسانس، ساختار صحیح جایگاه اتصال به پادگن در این پادتن را تأیید کرد.[۴]

نتیجه گیری

امروزه اهمیت دانش و فن مهندسی ژنتیک در ایجاد موجودات زنده‌ی تراژنی برای تولید فراورده‌های زیستی بیش از هر زمان آشکار شده است. تولید محصولاتی نظیر داروها، واکسن‌ها و پادتن‌ها، انتقال ویژگی‌های مفید به موجودات زنده و نیز شناخت بسیاری از اسرار علم زیست‌شناسی مولکولی از دستاوردهای این دانش است. اهمیت استفاده از موجودات زنده‌ی تراژنی در تولید فراورده‌های زیستی این است که در این روش با کمک چرخه‌های طبیعی حیاتی، محصولاتی با ساختار بسیار طبیعی و سالم تولید می‌شوند که این روند تولید، کاهش قیمت محصول و عدم استفاده از انرژی‌های غیر قابل بازیافت را به دنبال دارد. با توجه به آثار بی‌شمار این فن در میدان‌های مختلف علمی، پژوهشی، اقتصادی، و اجتماعی سرمایه‌گذاری‌های کلانی از سوی کشورهای پیشرفته‌ی جهان صورت گرفته است که میزان آن به‌طور چشمگیری روبه افزایش است. توسعه‌ی این فناوری در ایران گام مؤثری در پیشرفت عرصه‌های مختلف کشاورزی و صنایع غذایی، شاخه‌های مختلف علوم پزشکی و صنایع دارویی، محیط‌زیست و بهداشت خواهد بود.

پانوشت‌ها

1. biotechnology
2. microorganisms
3. bioreactor

۴. transgenic: به موجوداتی اطلاق می‌شود که حامل یک ماده‌ی ژنتیکی خارجی در ژنوم خود هستند. به این ماده‌ی ژنتیکی خارجی «تراژن» (transgene) گفته می‌شود.

5. Gordon
6. Palmiter
7. expression
8. neurodegenerative diseases
9. Alzhymer's disease
10. Huntington's chorea
11. Cystic Fibrosis
12. Hemorraghie
13. Robert Wall
14. Gaucher's disease
15. Nematodes
16. Andro Hiatt
17. hybridoma
18. plantibodies
19. mesophill

منابع

1. Meade, H. and Ziomek C. "Urine as a substitute for milk?" *Nature Biotechnology*, **16**, p. 21 (1988).
2. Cameron, E.R. "Recent advances in transgenic technology." *Molecular Biotechnology*, **7**, p. 253 (1977).
3. Arntzen C.J. "High-tech herbal medicine: plant- based vaccines." *Nature Biotechnology*, **15**, p. 221 (1997).
4. Smith, M.D. "Antibody production in plants." *Biotechnology Advances*, **14**, p. 267 (1996).
5. Gelvin, S.B. "The introduction and expression of transgenes in plants." *Current opinion in Biotechnology*, **9**, p. 227 (1998).
6. Westphal, H. "Transgenic mice." *BioEssays*, **6**, p. 73 (1987).
7. Register, J.C. "Approaches to evaluating the transgenic status of transformed plants." *Trends in Biotechnology*, **15**, 1997, p. 141.
8. Hanahan, D. "Dissecting multistep tumorigenesis in transgenic mice." *Ann. Rev. Genetics*, p. 479 (1987).
9. Cannon, R.E. "Shock toxicology with transgenics." *Nature Biotechnology*, **15**, p. 1349 (1997).
10. theuring F. & et al."Transgenic animals as models of neurodegenerative diseases in humans." *Trends in Biotechnology*, **15**, p. 320 (1997).
11. Hennighausen, L. "Transgenic factor VIII: The milky way and beyond." *Nature Biotechnology*, **15**, p. 945 (1997).
12. Cole, K.D. "Aquous two-phase partitioning of milk proteins." *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **67**, p. 97 (1997).
13. Paleyanda R.K. & et al. "Transgenic pigs produce functional human factor VIII in milk." *Nature Biotecnology*, **15**, p. 971 (1997).
14. McKee C. & et al. "Production of biologically active salmon calcitonin in the milk of transgenic rabbits." *Nature Biotechnology*, **16**, p. 647 (1998).
15. Gordon, M. "Suffering of the lamb." *New Scientist*, **154**, p. 16 (1997).
16. Franken, E. & et al. "Recombinant proteins from transgenic plants." *Current opinion in Biotechnology*, **8**, p. 411 (1997).
17. Moore, I. & et al. "A transcription activation system for regulated gene expression in transgenic plants." *PNAS*, **95**, p. 376 (1998).

18. "Human hemoglobin from transgenic plants." *Nature Biotechnology*, **15**, p. 304 (1997).
19. Kleinerm, K. "Human harvest festival." *New Scientist*, **155**, p. 2090 (1997).
20. Snow, A.A. and Palma, P.M. "Commercialization of transgenic plants: Potential Ecological Risks." *Biosciences*, **47**, p. 86 (1997).
21. Knight, J. "Tomatoes with a pinch of salt." *New Scientist*, **155**, p. 16 (1997).
22. Roxas, V.P. & et al. "Overexpression of Gst/Gpx enhances the growth of transgenic tobacco." *Nature Biotechnology*, **15**, p. 988 (1997).
23. Holmberg, N. & et al. "Transgenic tobacco expressing vitreoscilla hemoglobin." *Nature Biotechnology*, **15**, p. 244 (1997).
24. Mackenzie, D. "Beet gene beats worm pests." *New scientist*, **154**, p. 12 (1997).
25. Tabashnik, B.E. "Seeking the root of insect resistance to transgenic plants." *PNAS*. **94**, p. 3488 (1997).
26. Schuler, T.H. & et al. "Insect-resistant trasgenic plants." *Trends in Biotechnology*, **16**, p. 168 (1998).
27. Ehsani P. & et al. "Polypeptides of hepatitis B surface antigen produced in trasgenic potato." *Gene*, **190**, p. 107 (1997).
28. Kiernan, V. "Yes we have vaccinating bananas." *New scientist*, p.6.
29. Dixon, R.A. "Transgenic plant technology is entering the era of metabolic engineering." *Trends in Biotechnology*, **15**, p. 441 (1997).
30. Beachy, R.N. "Mechanisims & applications of pathogen derived resistance in trasgenic plants." *Current Opinion in Biotechnology*, **8**, p. 215 (1997).
31. Zheng, H.H. & et al. "Recovery of transgenic rice plants expressing the rice dwarf virus outer coat protein gene (S8)." *Theor, Appl. Genet.*, **94**, p. 522 (1997).