

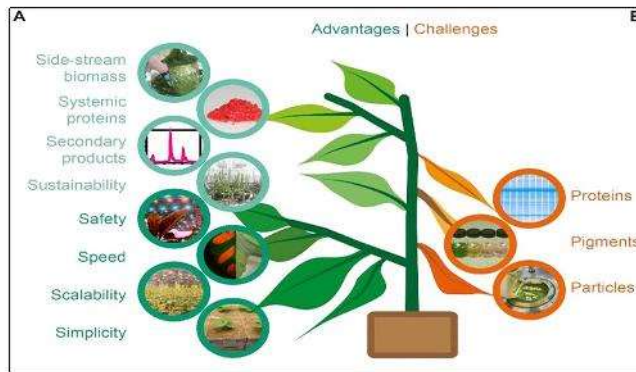
کشاورزی مولکول

زهرا کاظمی بیده‌ندی^۱، دانشجوی کارشناسی مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی

هزاران سال است که انسان از گیاهان به‌عنوان غذا، دارو و منبع مواد اولیه لازم برای زندگی خود استفاده می‌کند. شواهد به‌دست‌آمده از اولین مراحل شهرنشینی حاکی از آن است که عصاره گیاهان مختلف جهت تولید دارو جهت تخفیف درد و درمان بیماری‌ها به کار گرفته می‌شده است. در اواخر دهه ۱۹۷۰ میلادی، بسیاری از پروتئین‌های درمانی و تشخیصی به‌واسطه تحقیقات زیست‌شناسی و پزشکی مولکولی کشف شده بودند ولی استفاده عمومی از این مولکول‌ها به دلایل مختلف مثل راندمان پایین تولید و کیفیت پایین محصولات امکان‌پذیر نبود. در اواخر دهه ۱۹۸۰ میلادی، استفاده از فناوری DNA و پروتئین نوترکیب در سیستم‌های بیانی گیاهی برای تولید ارزان‌تر و بی‌خطرتر پروتئین‌های دارویی موردتوجه قرار گرفت و اولین پروتئین نوترکیب یعنی هورمون رشد انسانی برای بیان در گیاه (توتون و آفتابگردان) در سال ۱۹۸۶ انتخاب شد. اولین آنتی‌بادی تولیدشده در سیستم گیاهی نیز در توتون و در سال ۱۹۸۹ گزارش شد. در پی آن اولین محصول تجاری حاصل از کشاورزی مولکولی، آویدین (Avidin) بود که در سال ۱۹۹۷ در ذرت تراریخته بیان شد. در دهه بعد، گیاهان به‌عنوان جایگزینی ساده، ایمن و اقتصادی برای سیستم‌های تولید پروتئین میکروبی یا جانوری مطرح شدند و تولید داروهای گیاهی و پروتئین‌های نوترکیب در گیاهان کشاورزی مولکولی (Molecular Farming) نام گرفت؛ عبارتی به مفهوم بهره‌برداری از ظرفیت کشاورزی برای تولید محصولات مختلف دارویی و تشخیصی، آنزیم‌های صنعتی و مواد مختلف شیمیایی در گیاهان و سلول‌های گیاهی که شامل مراحل مختلف کشت، برداشت، نگهداری و فرآیندهای مختلف تولید پایین دست مثل استخراج و تخلیص پروتئین می‌شود. کشاورزی مولکولی از لحاظ نظری ظرفیت تولید نامحدود آنتی‌بادی‌ها، واکسن‌ها، پروتئین‌های خونی، فاکتورهای رشد و سایر آنزیم‌ها و پروتئین‌های نوترکیب مورد استفاده در تشخیص و درمان صنایع مرتبط با سلامت، صنایع شیمیایی و سایر صنایع وابسته به علوم زیستی مانند صنایع غذایی را داراست. از لحاظ تکنیکی نیز گیاهان توانایی تولید پروتئین‌های دارویی پیچیده با عملکرد مورد انتظار (functional proteins) مثل پروتئین‌های سرم انسانی، تنظیم‌کننده‌های رشد، انواع آنتی‌بادی، واکسن‌ها، هورمون‌ها، سیتوکینین‌ها و آنزیم‌های مختلف را دارا هستند. این توانایی به خاطر تغییرات پس از ترجمه مناسب در گیاهان است که باعث شکل‌گیری صحیح و در پی آن ساختار و عملکرد درست پروتئین نوترکیب می‌شود. تولید پروتئین‌های نوترکیب از حدود سه دهه گذشته آغاز گردید و امروزه تعداد فرآورده‌های پروتئینی که در بازار موجود بوده و یا در حال گذراندن مراحل اواخر بالینی می‌باشد افزایش چشمگیری از خود نشان داده است، به‌طوری‌که تاکنون بیش از ۴۰ نوع از این داروها مورد تأیید قرار گرفته و حدود ۸۰۰ نوع دیگر نیز در حال گذراندن مراحل مختلف آزمایش‌ها بالینی می‌باشد. بر اساس گزارش‌های موجود، پیش‌بینی می‌شود بازار جهانی داروهای پروتئین از ۸۶/۸ میلیارد دلار در سال ۲۰۰۷ با نرخ رشد سالانه ۱۰/۹٪ به میزان ۱۶۰/۱ میلیارد دلار در سال ۲۰۱۳ افزایش یابد که در این میان آنتی‌بادی‌های تغییریافته و مهندسی‌شده بیشترین سهم را به خود اختصاص داد.

1. Zahra.kazemib@ut.ac.ir

از این گذشته، جداسازی ترکیبات هدف، به دلیل کم بودن پیچیدگی سلولی به آسانی انجام می‌شود؛ بنابراین کشت سلول گیاهی، به منبع تولید بسیار مناسب پروتئین‌های فعال از لحاظ بیولوژیکی به شمار می‌رود. البته ذکر این نکته نیز ضروری است که در این رویکرد بعضاً میزان تولید و کیفیت محصول تحت تأثیر اختلالات محیطی قرار گرفته و پروتئین‌ها در طی جداسازی تخریب می‌شوند.



شکل ۲: مزایا و چالش‌هایی که معمولاً در طی کشاورزی مولکولی روبرو می‌شوند. جنبه‌های گزارش شده (سبز تیره و نارنجی) و مزایای بالقوه جدید (سبز روشن).

در سال‌های اخیر گیاهان تراریخته به‌عنوان سیستم‌های بیانی جهت تولید پروتئین‌های نوترکیب به دلیل کم بودن هزینه تولید و خالص‌سازی مورد توجه قرار گرفته‌اند. در حال حاضر ۴ روش تولید پروتئین از طریق سیستم‌های کشاورزی مولکولی وجود دارد:

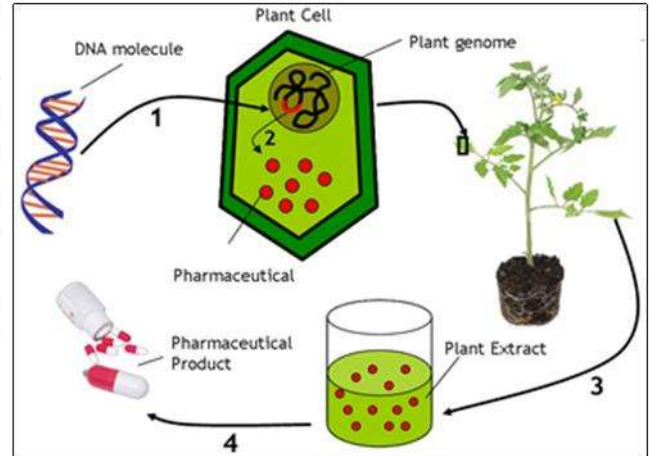
۱- انتقال هسته‌ای پایدار محصول گونه‌هایی که در زمین یا گلخانه افزایش می‌یابند.

۲- انتقال پلاستییدی پایدار گونه‌های زراعی

۳- انتقال پایدار گونه‌های گیاهی که در محیط هیدروپونیک رشد می‌کنند که پروتئین تراریخته به محیط ترشح و جمع آوری می‌شوند.

۴- انتقال گذرا گونه‌های زراعی

انتقال هسته‌ای پایدار: شایع‌ترین روش تا به امروز انتقال هسته‌ای پایدار گونه‌های زراعی است که تا به امروز تمام محصولات موجود در بازار را تولید کرده است. این سیستم نیاز به یک روش برای انتقال ژن خارجی به داخل سلول گیاهی دارد که معمولاً با استفاده از آگروباکتریوم تومافاشیس یا بمباران ذره‌ای به داخل ژنوم هسته میزبان به شیوه‌ای پایدار گنجانده می‌شود.



شکل ۱: خلاصه مراحل تولید یک دارو از ابتدا تا انتها (۱) انتقال ژن موردنظر به سلول گیاهی (۲) تبدیل سلول به گیاه کامل (۳) استخراج ماده تولیدشده از استخراج سلول (۴) خالص‌سازی ماده موردنظر و تولید دارو

مزیت‌های استفاده از گیاهان به‌منظور تولید پروتئین:

چندین مزیت برای استفاده از گیاهان به‌عنوان کارخانه تولید دارو وجود دارد. تولید پروتئین‌های فعال از لحاظ بیولوژیکی از کشت سلول گیاهان، ارزان‌تر از پروتئین‌های مشابه در سیستم‌های قدیمی‌تر کشت سلول جانوری می‌باشد. همچنین سلول‌های گیاهی می‌توانند تحت شرایط ساده‌ای کشت یابند. علاوه بر این محصولات سنتز شده جدید، به‌سادگی قابل انباشت و ذخیره به میزان زیاد در اندامک‌های هدف مانند شبکه آندوپلاسمی، واکوئل‌های ذخیره پروتئین و پلاستید را داشته و به‌این ترتیب دور از دسترس پروتازها تجمع می‌یابند. خطر آلودگی محصولات در سیستم‌های گیاهی برخلاف سیستم‌های جانوری کاهش یافته است. هنگامی که از گیاهان استفاده می‌شود امکان ایجاد تغییرات زنجیره قند در پروتئین‌های سنتز شده وجود دارد. این تغییرات در تولید پروتئین‌های نوترکیب پستانداران در سیستم گیاهی حائز اهمیت می‌باشد. دستیابی به این مزیت‌ها و استفاده از سلول‌های گیاهی به‌عنوان کارخانه تولید دارو حاصل پیشرفت در روش‌های کشت سلول گیاهی می‌باشد، به‌ویژه هنگامی که این اطلاعات با آنالیز روش‌های شیمیایی همراه شدند. کنترل شرایط رشد سلول‌های گیاهی برای رسیدن به بازده و کیفیت مطلوب، آسان‌تر بوده و پارامترهای رشد مانند (pH، تغییرات در محیط غذایی، درجه حرارت و غیره) به‌منظور افزایش معنی‌دار بازده تولید قابلیت بهینه‌سازی دارند.

پروتئین‌های تولیدشده در گیاهان برای اهداف کشاورزی مولکولی را در حال حاضر به ۵ گروه می‌توان تقسیم کرد:

۱. داروهای اصلی و واسطه‌های دارویی: این گروه شامل تمام

پروتئین‌هایی است که به‌طور مستقیم به‌عنوان دارو به همراه پروتئین‌های استفاده‌شده در ساخت مواد دارویی استفاده می‌شوند، می‌باشد؛ مانند ترومبین، کلاژن، تریپسین، آتروپین و غیره.

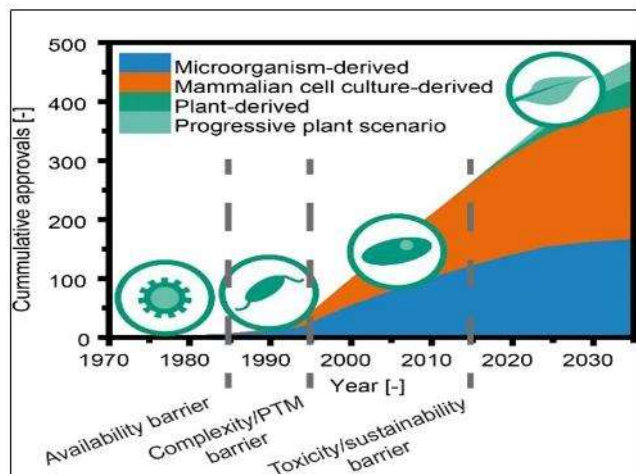
۲. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال: آنتی‌بادی‌ها گلیکوپروتئین‌هایی هستند که با تخصص بالایی آنتی‌ژن هدف را تشخیص داده و به آن می‌چسبند. این فعالیت اختصاصی و انفرادی اتصال اجازه می‌دهد تا از آنتی‌بادی‌ها برای موارد مختلفی از جمله تشخیص، جلوگیری و درمان برخی بیماری‌ها استفاده شود. این گروه شامل تمام فرم‌های آنتی‌بادی (IgG، Iga، ga) و قطعات آنتی‌بادی (fv) هستند.

۳. آنتی‌ژن‌ها به عنوان واکسن: ماده اصلی هر واکسن جدید شامل میکروارگانیزم‌های کشته‌شده، میکروارگانیزم‌های غیر بیماری‌زا، فرآورده‌های میکروبی مثل سم یا اجزای

انتقال پلاستییدی پایدار: این روش اولین بار توسط آب و همکاران (۱۹۹۰) با استفاده از تنباکو گزارش شده است. به نظر می‌رسد که تنباکو تنها گونه‌ای باشد که انتقال پلاستییدی به‌طور روتین روی آن انجام شده است. ژن پلاستید معمولاً از طریق دانه‌گرده منتقل نمی‌شود بنابراین تلاقی خارجی نگرانی مهمی نیست.

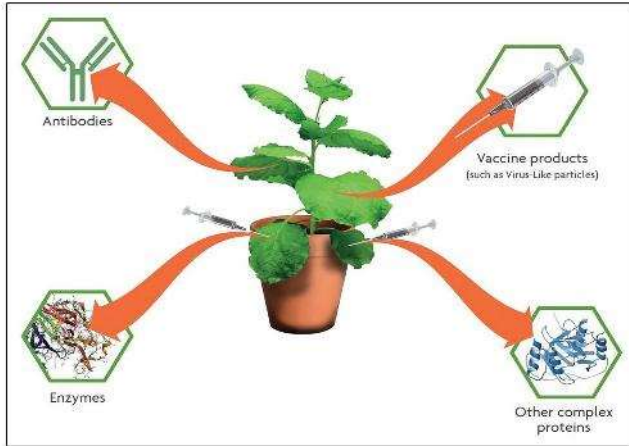
انتقال گذرای گونه‌های زراعی: این روش وابسته به توانایی ویروس‌های گیاهی مانند TMV (ویروس موزایک تنباکو) و PVX (ویروس سیب‌زمینی) دارد که به‌عنوان وکتور برای انتقال ژن خارجی به درون گیاه بدون ادغام استفاده می‌شوند. سطح بیان عفونت و سطح بیان موقت پروتئین در بافت گیاهی اهمیت دارد. پروتئین در بافت بینابینی تجمع می‌یابد، سپس مایع میان‌بافتی را توسط سانتریفیوژ تحت خلأ جمع‌آوری می‌شود.

انتقال پایدار گونه‌های رشد یافته در محیط هیدروپونیک: در این سیستم گیاهان تراریخته حاوی ژن کدکننده پروتئین خارجی که در محیط هیدروپونیک رشد کرده‌اند، محصول موردنظر را به عنوان بخشی از ترشحات ریشه به داخل محیط رها می‌کنند. این گیاهان رشد یافته در محیط هیدروپونیک در گلخانه قرار دارند که ترس از انتشار آلودگی محیط‌زیست را کاهش می‌دهد.



شکل ۳: داروهای مورد تأیید در میکروارگانیزم‌ها (پروکاریوت‌ها و یوکاریوتی)، سلول‌های پستانداران یا سلول‌های گیاهی در فواصل ۵ ساله بر اساس داده‌های منتشر شده تا سال ۲۰۱۴ و پیش‌بینی تا سال ۲۰۳۰





شکل ۴: پروتئین‌های تولیدشده در گیاهان برای اهداف کشاورزی مولکولی

به‌هرحال تولید پروتئین‌های دارویی در گیاهان تنها زمانی تحقق خواهد یافت که این محصولات بالاترین استانداردهای کیفی را داشته تا بتوانند در آزمایش‌های کلینیکی تأییدیه‌های لازم نظام‌های نظارتی برای استفاده‌های درمانی را کسب کنند. دستیابی به این هدف مشروط به توسعه و پیشرفت تکنیک‌های افزایش عملکرد و اطمینان از پایداری و کیفیت محصول در مراحل مختلف استخراج و تولید مطابق با استانداردهای (Good Manufacturing Practice) GMP است. علاوه بر این چالش‌های دیگری مثل ملاحظات زیست محیطی، ایمنی زیستی و ارزیابی خطر احتمالی گیاهان تراریخته که در این فرآیند رهاسازی می‌شوند و ایمنی محصولات حاصل از آن‌ها نیز وجود دارد.

منابع

۱- کدخدایی س، اشرفی س، الهیم، جوزانی غ، کشاورزی مولکولی (۱۳۸۹)

۲- موفقیت (۱۳۸۸) جوارانم، محی‌الدینی م، اصل‌های کشاورزی مولکولی در ایران، مجله بیوتکنولوژی (۱۳۸۸)، پاییز ۱، شماره ۱ دوره کشاورزی

3- Horn, M. E. S. L. Woodard, et al. (2004). "Plant molecular farming: systems and products." *Plant Cell Rep* 22: 711-720.

میکروبی خالص شده می‌باشد. واکسن مواد آنتی‌ژنی برای تولید ایمنی نسبت به یک بیماری است. واکسن‌هایی که ماده فعال آن‌ها آنتی‌ژن‌های نوترکیب هستند این خطر ناچیز را ندارند. پروتئین نوترکیب زیر واحد واکسن‌ها معمولاً در *E. Coli*، مخمر و با کشت سلول‌های پستانداران تولید می‌شود اما بر اساس مقیاس، کیفیت محصول و هزینه تولید، محدود شده است.

۴. آنزیم‌ها: آنزیم‌ها خود به دو گروه مجزا تقسیم می‌شوند: الف، پروتئین‌های صنعتی: این گروه شامل هیدرولازها، گلیکوزیلازها و پرونیاز هاست (در صنعت مواد شوینده). آنزیم‌های اکسایش - کاهش مانند لاکتاز (مورد استفاده در صنعت غذایی) آنزیم‌های مورد استفاده در فیبر سفید و چسب زیستی (Bioglue) محصولات چوبی، نشان‌دهنده یک کلاس جدا از آنزیم‌های صنعتی است. ب) پروتئین‌های درمانی: آنزیم‌های تولیدی نوترکیب و بیماری‌هایی که این قبیل آنزیم‌ها کنترل می‌کنند مانند النبلاز، درناز الفا (پالموزایم) ...

