

## نقش گیاهان تراریخته در تولید آنتی ژن واکسن‌ها

زهرا امینی

گروه باغبانی دانشگاه شهید چمران اهواز

zohamini@scu.ac.ir

### چکیده

در جهان کنونی واکسن‌های بسیاری بر علیه بیماری‌های واگیردار در بازار موجود است. اما از آنجایی که بیشتر آن‌ها گران هستند در حال حاضر کوشش‌های بسیاری صورت می‌گیرد تا با استفاده از گیاهان تراریخته واکسن‌های خوراکی گیاهی تولید شود. این واکسن‌ها ارزان بوده و نسبت به واکسن‌های تجاری دارای مزایای بسیاری هستند که از مهم‌ترین آنها می‌توان به سالم بودن فرآورده‌های حاصل و کاهش هزینه‌های تولید، انبارداری و حمل و نقل اشاره کرد. گیاهان تراریخته شده برای این منظور می‌توانند پروتئین‌های نو ترکیب شامل آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌های ویروسی و باکتریایی را بیان کنند. در سال‌های اخیر گیاهانی با ارزش غذایی بالا به‌عنوان سیستم‌های بیان انتخاب شده‌اند. بعضی از آن‌ها را می‌توان خام خورد و در نتیجه نیاز به فرآیند فرآوری و خالص‌سازی را کاهش می‌دهند. تا کنون از گیاهانی مانند موز، گوجه فرنگی، برنج، هویج و .... برای تولید واکسن بر علیه بیماری‌های مشخصی مانند هیپاتیت بی، وبا، اچ.آی.وی و .... استفاده شده است. در این مقاله به روش‌های تولید واکسن خوراکی با استفاده از گیاهان تراریخته و مزایا و معایب این فناوری اشاره می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** آنتی ژن، گیاهان تراریخته، واکسن‌های خوراکی.

## مقدمه

در حال حاضر بیش از ۴۵ درصد مرگ و میرها در کشورهای در حال توسعه ناشی از بیماری‌های واگیردار<sup>۱</sup> است. مهم‌ترین راهکار جهت جلوگیری از این بیماری‌ها واکسیناسیون افراد است. اما هنوز هم بیش از ۳۰ میلیون کودک در دنیا بر علیه این بیماری‌های قابل پیشگیری و درمان، ایمن سازی نشده‌اند. زیرا روش‌های کنونی تولید واکسن از نظر فناوری پیچیده و در نتیجه گران هستند. به‌ویژه شرایط و امکانات بسته‌بندی، نگهداری در سرما و حمل و نقل آن‌ها موجب افزایش قیمت می‌شود. چنین شرایطی موجب می‌شود که بخش بزرگی از جمعیت کشورهای در حال توسعه و فقیر به واکسیناسیون دسترسی نداشته باشند (۱۵). از سوی دیگر، به‌طور معمول برای درمان بیماری‌های ناشی از آلودگی با باکتری یا ویروس از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف استفاده می‌شود. اما استفاده نامناسب از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به افزایش مقاومت باکتری‌ها به آنها می‌شود. به همین دلیل در راهکارهای جدید ایمن‌سازی بدن انسان، بر روش‌های پیشگیری بیشتر از درمان

بیماری‌های واگیردار سفارش و تاکید می‌شود (۷). در چنین شرایطی، تقاضا برای واکسن‌های ارزان قیمت روز به روز افزایش می‌یابد. از این رو یک نظریه جدید نیاز است تا تولید و کاربرد واکسن‌ها را ساده‌تر کند.

پیشرفت در روش‌های زیست‌شناسی مولکولی در دهه ۱۹۸۰ به توسعه راهکارهای جدید برای تولید زیر واحد واکسن‌ها کمک کرد (۱۵). این پیشرفت‌ها شامل استفاده از سیستم‌های مختلف بیان پروتئین‌های نو ترکیب مانند سیستم‌های فرماتاسیون<sup>۲</sup> باکتری‌ها (مانند *E. coli*) یا سلول پستانداران (مانند سلول‌های تخمدان موش چینی<sup>۳</sup>) بودند. اما این سیستم‌ها دارای محدودیت‌هایی هستند. سیستم‌های بیانی که جهت تولید پروتئین‌های نو ترکیب از سلول‌های پستانداران استفاده می‌کنند، فرآورده‌هایی را به وجود می‌آورند که به‌طور کامل مشابه آنهایی است که به‌طور طبیعی در بدن انسان تولید می‌شوند. اما چون کشت این سلول‌ها گران تمام می‌شود، این سیستم در مقیاس محدود قابل اجرا است (۴ و ۵). همچنین ممکن است سم‌ها، عوامل آلوده کننده و سایر ترکیب‌های خطرناک وارد

2- Fermentation

3- Chineses hamster over cells

1- Infectious diseases

## "ایمنی، نقش گیاهان تراریخته در تولید آنتی‌ژن واکسن‌ها"

یا یک گونه به‌طور کامل متفاوت بدست آمده باشد. تولید گیاهان تراریخته با اهداف مختلفی، مانند به‌دست آوردن عملکرد بیشتر، بهبود کیفیت، ایجاد مقاومت به آفات و بیماری‌ها و..... صورت می‌گیرد. بنابراین در مسیر مشابهی می‌توان گیاهان تراریخته‌ای به‌وجود آورد که می‌توانند پروتئین‌های صنعتی و دارویی مورد نیاز انسان شامل آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، آنتی‌ژن واکسن‌ها، آنزیم‌های درمانی، پروتئین‌های خون، سیتوکین‌ها، فاکتورهای رشد و هورمون‌های رشد را بیان کنند (۱۹). مهم‌ترین مزیت کاربرد گیاهان تراریخته، سالم بودن فرآورده‌های حاصل از آنها است. گیاهان تراریخته نمی‌توانند میزبان پاتوژن‌های انسانی باشند. از این‌رو فرآورده‌های آلوده به پاتوژن‌های انسانی مانند ویروس هپاتیت، ویروس اچ‌ای.وی، عوامل سرطان‌زا<sup>۴</sup> و سموم باکتریایی تولید نمی‌کنند (۱۳). بیان پپتید آنتی‌ژن‌ها در قسمت‌های خوراکی و خوشمزه گیاه منجر به سنتز واکسن‌های فعال خوراکی شده است (۷). به نظر می‌رسد که در حال حاضر سنتز واکسن‌ها (آنتی‌ژن‌های نوترکیب) در گیاهان ایده نوید

سلول‌های حیوانی شوند و فرایند خالص‌سازی را سخت‌تر کنند (۸). کاربرد میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری *E. coli* باعث می‌شود که پروتئین‌های نوترکیب در مقیاس وسیع تولید شوند؛ اما مهم‌ترین مشکل این سیستم‌ها این است که فرآورده‌های حاصل به‌طور محسوسی با فرآورده‌های طبیعی انسانی اختلاف دارند. برای مثال، پروتئین‌هایی که به‌طور معمول در انسان گلیکوزیله می‌شوند، به‌وسیله باکتری‌ها گلیکوزیله نمی‌شوند (۵). زیرا باکتری‌ها فاقد امکانات سلول‌های یوکاریوتی جهت انجام اصلاحات پس از ترجمه<sup>۴</sup> هستند (۴). یک سیستم بیان کننده پروتئین‌های نوترکیب باید مواد زیستی را با بیشترین فعالیت زیستی، ایمنی و کمترین هزینه تولید کند (۱۸). گیاهان تراریخته<sup>۵</sup> جایگزین مناسبی برای سیستم‌های بیان رایج مانند کشت سلول‌های جانوری و پروکاریوتی هستند. گیاهان تراریخته دارای ژن یا ژن‌هایی هستند که به‌طور مصنوعی به آنها الحاق شده است. ژن الحاق شده به‌عنوان تراژن<sup>۶</sup> شناخته می‌شود و ممکن است از یک گیاه خویشاوند

4- Post-Translational Modification

5- Transgenic

6- Transgen

7- Ocongenges

پیشرفت‌های قابل توجهی در این زمینه به وجود آمده است، در سال ۱۹۹۲ اولین واکسن خوراکی کودکان به وسیله این روش تولید شد و به توسعه واکسن خوراکی کم هزینه در دنیا کمک موثری کرد. در ابتدا این واکسن‌ها بر علیه عوامل اصلی به وجود آورنده اسهال که سالانه موجب مرگ ۳ میلیون نوزاد در جهان می‌شود، بکار برده شدند (۷). در حال حاضر تعدادی از واکسن‌های نوترکیب انسانی و حیوانی تولید شده در گیاهان تراریخته را بر علیه بیماری‌هایی مانند هپاتیت و آنهایی که از طریق غذا و دهان منتقل می‌شوند، آزمایش کرده‌اند. هم‌چنین آزمایش‌هایی به منظور تعیین پاسخ ایمنی انسان بر اینتروتوکسین نوترکیب (LT-B)<sup>۹</sup> باکتری *E. coli* و کپسید پروتئینی ویروس نورواک<sup>۱۰</sup> (NVCP) تولید شده در سیب‌زمینی تراریخته صورت گرفته است، از ۲۰ داوطلبی که سیب‌زمینی خام حاوی NVCP را خوردند، در ۱۹ نفر پاسخ ایمنی همراه با افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های ترشح کننده آنتی‌بادی A بود. هم‌چنین در ۶ نفر (۳۰ درصد) از این افراد تعداد سلول‌های ترشح کننده IgG نیز افزایش

9- Recombinant introloxin(Lt-B)  
10- Norwalk Virus Capsid Protein

بخشی برای حل مسئله واکسیناسیون است.

## مزایای استفاده از گیاهان تراریخته به عنوان راکتورهای زیستی<sup>۸</sup>

- ۱- سالم بودن فرآورده‌های حاصل.
  - ۲- توانایی پردازش پس از ترجمه پروتئین‌های نوترکیب.
  - ۳- استفاده از روش‌های به‌نژادی و تلاقی‌های جنسی جهت به دست آوردن پروتئین‌های فعال چند زنجیره‌ای.
  - ۴- کاهش هزینه تولید.
  - ۵- تولید به میزان زیاد با استفاده از سیستم کشاورزی.
  - ۶- کاهش هزینه‌های انبارداری و حمل و نقل پروتئین‌های نوترکیب.
  - ۷- حذف مرحله خالص سازی وقتی که بافت گیاهی حاوی پروتئین نوترکیب، خوراکی باشد (مانند واکسن‌های خوراکی).
  - ۸- اجتناب از مسایل اخلاقی مرتبط با حیوانات تراریخته.
- از زمانی که برای اولین بار توسط چارلز آرتزن (۱۹۹۲) ایده مصرف واکسن‌های تولید شده در گیاهان تراریخته مطرح شد،

8- Bioreactor

## "ایمنی، نقش گیاهان تراریخته در تولید آنتی‌ژن واکسن‌ها"

در این قسمت به بررسی دو راهکار پرداخته می‌شود و در پایان سعی شده است مشکلاتی که در هر دو روش وجود دارد، مورد بحث قرار گیرد.

### بیان آنتی‌ژن‌ها در گیاهان تراریخته

در آزمایش‌های اولیه برای نشان دادن این موضوع که از گیاهان تراریخته می‌توان به‌جای فرمانتورها برای بیان پروتئین‌های نوترکیب استفاده کرد، پروتئین‌های ایمنی‌زا عوامل

قابل توجهی داشت و این نتیجه نشان می‌دهد که NVCP بر روی سیستم ایمنی روده نیز اثر می‌گذارد (۱۶). بدین ترتیب با استفاده از روش‌های زیست فناوری و سیستم کشاورزی می‌توان مقدار زیادی آنتی‌ژن را با قیمت پایین در گیاهان تولید کرد. از سیستم کشاورزی به دو روش زیر می‌توان برای تولید واکسن‌های نوترکیب استفاده کرد.

۱- بیان آنتی‌ژن‌ها در گیاهان تراریخته.

۲- تولید پپتیدهای آنتی‌ژن بر سطح ویروس‌های آلوده کننده گیاهان.

جدول ۱- واکسن‌های انسانی بیان شده در گیاهان تراریخته (دانیل و همکاران، ۲۰۰۱).

منبع پروتئین و گونه هدف	پروتئین یا پپتید بیان شده	گیاه میزبان	میزان بیان
اینترتوکسین <i>E.coli</i> (انسان)	زیر واحد B سم حساس به گرما	تنباکو	کمتر از ۰/۰۱٪ پروتئین محلول کل
اینترتوکسین <i>E.coli</i> (انسان)	زیر واحد B سم حساس به گرما	سیب زمینی	۰/۱۹٪ پروتئین محلول کل
اینترتوکسین <i>E.coli</i> (انسان)	زیر واحد B سم حساس به گرما	ذرت	گزارش نشده
ویروس هپاتیت B (انسان)	غلاف پروتئین سطحی	سیب زمینی	کمتر از ۰/۰۱٪ وزن تر
ویروس هپاتیت B (انسان)	غلاف پروتئین سطحی	تنباکو	کمتر از ۰/۰۱٪ وزن تر
ویروس هپاتیت B (انسان)	غلاف پروتئین سطحی	کاهو	کمتر از ۰/۰۱٪ وزن تر
ویروس نورواک (انسان)	پروتئین کپسید	تنباکو	۰/۲۳٪ پروتئین محلول کل
ویروس نورواک (انسان)	پروتئین کپسید	سیب زمینی	۰/۳۷٪ پروتئین محلول کل
ویروس‌های (انسان)	گلیکو پروتئین	گوجه فرنگی	۰/۱٪ پروتئین محلول کل
سیتومگالو ویروس انسانی (انسان)	گلیکو پروتئین B	تنباکو	کمتر از ۰/۲۰٪ پروتئین محلول کل

بیماری‌زای انسانی و حیوانی را در بافت‌های گیاهی سنتز کردند و سپس به صورت واکسن‌های خوراکی توسط انسان و حیوانات اهلی مصرف شد. در جدول ۱ اسامی تعدادی از واکسن‌های نو ترکیب تولید شده در گیاهان و گیاه میزبان آنها آورده شده است. در حال حاضر انتخاب مواد غذایی ویژه‌ای که مقدار معینی از واکسن را به بدن برساند در حال پژوهش و بررسی است.

یکی از مشکلات تولید واکسن‌ها در گیاهان غلظت پایین آنها در پروتئین محلول کل است. به طور معمول غلظت واکسن‌های نو ترکیب بین ۰/۰۱ درصد تا ۰/۴ درصد پروتئین محلول کل است. ریچر و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که میزان سنتز آنتی ژن سطحی هپاتیت B (HBsAg) در سیب زمینی به سیگنال‌های پلی آدنیلی ۳' و وابسته است. سیگنال‌های متفاوت باعث می‌شوند میزان تولید از ۱/۱ میکروگرم تا ۱/۶ میکروگرم آنتی ژن در هر گرم از بافت غده تازه تغییر کند. این امر به دلیل تفاوت پایداری mRNA است (۱۴). هم چنین سیگنال‌هایی که باعث ورود و نگهداری HBsAg در شبکه

آندوپلاسمی و باعث افزایش تولید آن نیز می‌شود. زیرا این امر منجر به تجمع HBsAg در شبکه آندوپلاسمی می‌شود و در نتیجه بین زیر واحدهای HBsAg برهم کنش موثرتری به وجود می‌آید. اما زمانی که با استفاده از پپتید عبور دهنده به کلروپلاست پایانه N<sup>۱۲</sup> HBsAg به غشای کلروپلاستی منتقل شد، پروتئینی بیان نشد. احتمال دارد به این دلیل باشد که تا خوردگی درست زیر واحدها نیازمند ورود به شبکه آندوپلاسمی است (۷). میزان بیان واکسن‌های نو ترکیب در گیاهان با استفاده از سیگنال‌های پلی آدنیلاسیون و توالی رهبر مناسب و بهینه سازی کدون مورد استفاده در گیاهان افزایش می‌یابد. خوردن واکسن‌ها به دلیل اینکه روشی آسان و کم هزینه است و هم چنین منجر به ایمنی غشاهای مخاطی بدن در مقابل عوامل بیماری‌زا می‌شود، که از طریق دهان وارد بدن می‌شوند، جایگزین مناسبی برای تزریق واکسن‌ها است. اما ملاحظه اصلی درباره واکسن‌های خوراکی این است که قبل از این که آنها بتوانند پاسخ ایمنی به وجود آورند در معده و روده تخریب می‌شوند. از این رو جهت حفاظت واکسن‌ها

12- N - terminal chloroplast transit peptide

11- 3- Polyadenylation signals

## "ایمنی، نقش گیاهان تراریخته در تولید آنتی‌ژن واکسن‌ها"

پروتئین است .

۴- بافت هدف مولکول سمی تولید نکند.

۵- پروتئین آنتی‌ژن بتواند به راحتی در بافت هدف تاخورد شده شود و تغییرات پس از ترجمه به خوبی صورت گیرد.

پژوهش‌ها نشان می‌دهند که توتون (*Nicotiana tabacum*) به‌عنوان یک گیاه مدل برای تولید آنتی‌ژن دارای ویژگی‌های بالا نیست. بنابراین در سال‌های اخیر گیاهانی با ارزش غذایی بالا به‌عنوان سیستم‌های بیان انتخاب شده‌اند. بعضی از آن‌ها را می‌توان خام خورد و نیاز به فرایند فرآوری و خالص‌سازی را کاهش می‌دهند. در حال حاضر بیان آنتی‌ژن‌های واکسنی در گیاهانی مانند میوه موز، سیب، گوجه فرنگی، گاوآه، بذر بادام زمینی، ذرت، سویا، نخود و سبزی کلم، کاهو، گوجه و اسفناج گزارش شده است (۱۱). هم‌چنین در سال ۲۰۱۲ بیان موفق آنتی‌ژن سطحی آنفولانزا ( $H_1N_1$ )<sup>۱۳</sup> در کاهو (۱۲)، زیر واحد واکسنی FMDV<sup>۱۴</sup> در برنج (۱۷) و زیر واحد واکسنی PRRSV<sup>۱۵</sup> در ذرت (۹) و در

در مقابل تخریب شدن، تعدادی حامل جهت سالم رساندن آنها به روده طراحی شده‌اند. این حامل‌ها شامل نژادهای نو ترکیب میکروارگانیسم‌های غیر فعال، بسته‌های زیستی مانند لیپوزوم‌ها هستند (۵).

### انتخاب سیستم گیاهی

توسعه بیشتر و موفقیت آمیز تولید آنتی‌ژن‌های واکسن در گیاهان تراریخته نیازمند گزینش درست آنتی‌ژن‌های محافظ ایمنی، طراحی ژن‌ها و آغازگر دارد تا بتوان آنتی‌ژن هدف را به مقدار زیاد در بافت هدف گیاهی بیان کرد. پس از آن باید از روش‌های مناسب انتقال ژن استفاده کرد تا ژن مورد نظر در بافت گیاهی هدف بیان شود. یک گیاه ایده‌آل برای تولید واکسن گیاهی باید دارای ویژگی‌های زیر باشد (۱۵).

۱- قابلیت انتقال ژن برای آن وجود نداشته باشد.

۲- آنتی‌ژن را در بافتی بیان کند که به‌صورت خام مصرف می‌شود زیرا آنتی‌ژن‌ها به گرما حساس هستند.

۳- بافت هدف سرشار از پروتئین باشد زیرا پروتئین واکسن قسمت کوچکی از کل

13- The full-length neuraminidase (NA) protein from the H1N1 strain of influenza

14- Porcine reproductive and respiratory syndrome disease

15- Foot-and-mouth disease virus

سال ۲۰۱۳ نیز بیان زیر واحد واکسنی BVDV<sup>16</sup> در یونجه (۱) گزارش شد.

### انتخاب بافت گیاهی

بیان آنتی ژن در بافت خوراکی منبعی ارزان و قابل دسترس برای بدست آوردن یک واکسن است. بیان پروتئین های نو ترکیب مهم تجاری در بافت برگ یک راهکار خوب نیست (۲). از آنجا که میزان پروتئین برگ پایین است جهت بدست آوردن مقدار مناسب از پروتئین مورد نظر، نیاز به تولید میزان زیادی بیوماس است، که همین امر هزینه تولید و در نتیجه اجرایی شدن پروژه را سخت تر می کند. هم چنین فعالیت آنزیم پروتئاز در برگ بسیار بالا است. حضور رنگ ریزه ها و ترکیبات فنولی نیز خالص سازی پروتئین نو ترکیب را سخت تر و گران تر می کند. بنابراین بسیار ضروری است قبل از تولید تجاری داروهای زیستی میزان بیان آن ها در گیاهان تراریخته افزایش یابد تا توان رقابت اقتصادی را داشته باشند. هم چنین میزان بیان پروتئین های نو ترکیب در گیاهان تراریخته تحت اثر فاکتورهای محیطی نیز قرار می گیرد. به آسانی

می توان با استفاده از روش هایی مانند سوسپانسیون سلولی، کشت تارکشنده (درون شیشه) و بذر (درون موجود زنده) پروتئین مورد نظر را به میزان زیادی تولید کرد. بافت بذر نشان می دهد که پتاسیل بالایی برای تولید پروتئین های مهم درمانی در سطح تجاری دارد. هم چنین می توان بذر نو ترکیب را به عنوان واکسن خوراکی به صورت مستقیم مصرف کرد.

گزارش شده است که آنتی بادی های تک زنجیره بیان شده در بذرهای برنج و گندم فعالیت زیستی بالایی نشان می دهند و برای چندین سال پایدار باقی می ماند. از این رو پروتئین های بیان شده در بذرها بسیار مهم هستند. ذخیره دراز مدت و جابجایی بذرها به دلیل میزان رطوبت کم در بذرهای بالغ به آسانی امکان پذیر است مخلوطی سرشار از چاپرون ها و ایزومرازهای دی سولفید موجود در بذرهای در حال رشد تا خوردگی درست پروتئین ها را امکان پذیر می کند. بافت های دیگر مانند بافت تارکشنده و سوسپانسیون های سلولی نیز می توانند بعنوان بافت هدف سودمند جهت بیان پروتئین های نو ترکیب استفاده کرد. اگر چه هزینه تولید چنین

16- Bovine viral diarrhoea virus



## "امینی، نقش گیاهان تراریخته در تولید آنتی ژن واکسن‌ها"

امکان‌پذیر باشد. به‌علاوه این ویروس‌ها باید پایدار باشد و به آسانی از بافت گیاهی خالص سازی شوند.

یکی از جنبه‌های مهم به هنگام طراحی یک پروتئین پوشش ویروسی اصلاح شده این است که مولکول‌های شمیر پروتئینی توانایی سرهم کردن<sup>۱۷</sup> خود را حفظ کنند و گیاه میزبان را به‌طور کامل آلوده کنند در بعضی از موارد دیده شده که پروتئین‌های نوترکیب آلوده سازی را محدود می‌کنند یا فقط باعث نکروزه شدن موضعی می‌شوند. برای حل این مشکل باید پیتید بیگانه را در جایگاهی از کپسید ویروس وارد کرد تا در ساختمان درون مولکولی یا سرهم شدن زیرا واحدها دخالت نکند. در جدول ۲ تعدادی از آنتی ژن‌های بیان شده در گیاهان ترا ریخته آورده شده است.

### هزینه تولید و خالص‌سازی

با توجه به این مطلب که گیاهان برای تولید مواد زیستی فقط به دی‌اکسید کربن، انرژی خورشیدی و ترکیب‌های غیرآلی نیاز دارند و فرمانتورها برای تولید مواد زیستی به تجهیزات، مواد اولیه و انرژی الکتریکی نیاز

سیستم‌های درون شیشه‌ای بیشتر است (۳).

### تولید پیتیدهای آنتی ژن بر سطح ویروس‌های آلوده کننده گیاهان

روش دیگر تولید گیاهان تراریخته بیان کننده آنتی ژن استفاده از ویروس‌های گیاهی اصلاح شده است که بعد از آلوده کردن گیاه مقدار زیادی پروتئین‌های آنتی ژنی در گیاه تولید می‌کند، اگر اپی توپ موجود بر روی آنتی ژن مورد نظر شناسایی شده باشد، می‌توان قطعات کوچک‌تری از دی.ان.ای کد کننده اپی توپ را با ژن کد کننده پوشش پروتئین ویروس گیاهی ترکیب کرد. سپس ویروس نوترکیب حمل کننده ژن شمیر جهت آلوده کردن گیاهان استفاده می‌شود. بدین ترتیب که سرتاسر گیاه اسپری پاشی می‌شود. در پایان بعد از تکثیر ویروس در بافت‌های گیاهی، ذرات ویروسی بیان کننده اپی توپ آنتی ژن از بافت‌های گیاهی جدا می‌شود و در پژوهش‌های ایمن‌شناسی بکار برده می‌شود. ویروس‌هایی برای این کار مناسب هستند که به میزان زیادی در بافت گیاه آلوده تکثیر شوند و هم‌چنین در سطح مولکولی به‌طور کامل شناخته شده باشند تا دست‌ورزی‌های ژنتیک

sIgA خالص را که در سیستم کشت سلولی پستانداران، بزهای تراریخته، بذر (عملگر ۷/۵ تن در هکتار) و بیوماس سبز (۱۲۰ تن در هکتار) بدست آمده بود، را با یکدیگر مقایسه کرد. مقدار بیان پروتئین نو ترکیب اثر معنی داری بر روی قیمت پایانی داشت و در بهترین حالت گزارش شده قیمت پایانی هر گرم sIgA کمتر از ۵۰ دلار آمریکا بود. بدین ترتیب قیمت تمام شده یک گرم پروتئین نو ترکیب بیان شده در گیاهان تراریخته بسیار کمتر از سیستم کشت سلول پستانداران (هرگرم ۱۰۰۰ دلار آمریکا) و استفاده از حیوانات تراریخته (هر گرم ۱۰۰ دلار آمریکا) است (۵).

### نتیجه گیری

در مقایسه با روش های سنتی تولید واکسن، واکسن های خوراکی گیاهی به آسانی استفاده می شوند. هزینه تولید پایین دارند، به راحتی ذخیره و نگهداری می شوند، حمل و نقل آنها مقرون به صرفه است و پاسخ مصنوعیت دهانی<sup>۱۸</sup> تولید می کنند. از این رو جامعه پزشکی تمایل زیادی به تولید

دارند، از این رو گیاهان تراریخته جایگزین اقتصادی مناسبی برای سیستم های تولید بر پایه فرمانتورها هستند (۲۱). گیاهان تراریخته را در سطح وسیعی می توان کشت کرد و با هزینه کم یا گاهی بدون سرمایه گذاری به مقیاس زیاد تولید کرد. برآورده شده است که هزینه تولید یک پروتئین نو ترکیب در گیاهان در حدود ۱/۱۰ تا ۱/۵ سیستم فرانتاسیون باکتری ها است. از این رو به نظر می رسد استفاده از گیاهان تراریخته برای تولید آنتی ژن اقتصادی تر هستند (۲۰).

به طور کلی سود مالی تولید پروتئین های نو ترکیب در گیاهان تراریخته بسیار زیاد است. تخمین هزینه تولید پروتئین های نو ترکیب در گیاهان مختلف براساس قیمت محصول، میزان پروتئین محلول کل و نسبت پروتئین نو ترکیب به پروتئین محلول کل تخمین زده می شود. برای مثال قیمت هر گرم IgG تولید شده در یونجه در گلخانه ای به مساحت ۲۵۰ متر مربع حدود ۶۰۰-۵۰۰ دلار آمریکا برآورده شده است در صورتی که قیمت هر گرم IgG تولید شده در سلول های هیبریدوما ۵۰۰۰ دلار آمریکا است (۱۰). در سال ۲۰۰۱ شرکت آمریکای زیست فناوری گیاهی قیمت یک گرم

18- Mucosal immune response

## "ایمنی، نقش گیاهان تراریخته در تولید آنتی‌ژن واکسن‌ها"

فراآورده سازی شامل ذخیره میوه‌های یک گیاه یا گیاهان مختلف، همگن سازی و انجماد خشک قبل از بسته بندی لازم است (۱۵). دوم اینکه مشخص شده است که استفاده از آنتی‌ژن‌های ساخته شده در گیاهان تراریخته از طریق دهان منجر به حساسیت‌های فوق‌العاده‌ای در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود، پدیده‌ای که مقاومت دهانی نامیده می‌شود. بنابراین لازم است مشخص شود مقدار آنتی‌ژنی که از طریق خوردن مواد گیاهی به بدن می‌رسد کمتر از مقداری باشد که مقاومت دهانی را القا می‌کند. مقاومت دهانی به غلظت و نوع آنتی‌ژن بستگی دارد. بنابراین در زمان تولید یک پروتئین در گیاه تراریخته باید به مسئله مقاومت دهانی توجه کرد (۶ و ۱۵). سوم اینکه استفاده از گیاهان تراریخته به‌عنوان راکتورهای زیستی تولید کننده پروتئین‌های نو ترکیب ملاحظاتی بسیاری را به‌وجود آورده است. به‌طور حتم قبل از اینکه موجودات تراریخته در محیط آزاد شوند باید ایمنی محیط زیست تضمین شود (۶) تا میوه و سبزی‌هایی که به‌عنوان غذا به‌وسیله انسان و حیوان مصرف می‌شوند از میوه و سبزی‌هایی که جنبه دارویی دارند، جدا شوند

پروتئین‌های نو ترکیب انسانی در گیاهان تراریخته نشان می‌دهد. این تصور که می‌توان از طریق گیاهان تراریخته مقادیر قابل توجهی آنتی‌ژن ارزان قیمت تولید کرد چشم‌انداز هیجان‌انگیزی دارد. استفاده از واکسن‌های خوراکی به‌ویژه زمانی که به‌عنوان قسمتی از رژیم غذایی مصرف می‌شود، باعث می‌شود که دیگر به تربیت پرسنل و تهیه تجهیزات لازم جهت تزریق واکسن به افراد نیازی نباشد اما قبل از اینکه این روش جدید به‌طور کامل توسعه یابد باید پژوهش‌های بیشتری با انواع مختلف آنتی‌ژن صورت گیرد (۶).

ایده اولیه واکسن‌های خوراکی گیاهی بیان می‌کرد که انسان می‌تواند میوه یا سبزی تراریخته بیان کننده آنتی‌ژن ویروس یا باکتری را به‌صورت خام مصرف کند. بدین ترتیب که گیاه خورده شده به‌صورت یک واکسن فعال عمل کرده و پاسخ ایمنی کافی را بر علیه بیماری خاصی بوجود می‌آورد. اما دانشمندان به این نتیجه رسیدند که این نظریه بسیار ساده‌لوحانه است. اول اینکه میوه‌های مختلف یک گیاه میزان متفاوتی از یک آنتی‌ژن را بیان می‌کنند. از این‌رو برای بدست آوردن غلظت کافی و یکسان از آنتی‌ژن مورد نظر حداقل

(۱۵). فرار تراژن‌های به سایر گیاهان کشت شده همان گونه یا خویشاوندان وحشی از نظر سلامتی و محیطی ملاحظاتی را در بردارد. جهت جلوگیری از تلاقی‌های جنسی ناخواسته گیاهان تراریخته با سایر گیاهان موجود در محیط می‌توان از روش نرعقیمی استفاده کرد. از این رو در همه حالت‌ها باید تعهدات و استانداردهای قانونی انجام گیرد تا بتوان از داروهای زیستی بدست آمده از گیاهان در سطح وسیع استفاده کرد.

## References

## منابع مورد استفاده

1. Aguirreburualde M.S.P. Gomez M.C. Ostachuk A. Wolman F. Albanesi G. Pecora A. Odeon A. Ardila F. Escribano J.M. Dus Santos M.J. and Wigdorovitz A. (2013). Efficacy of a BVDV subunit vaccine produced in alfalfa transgenic plants. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 151 (3-4): 315-324.
2. Benchabane M. Goulet C. Rivard D. Faye L. Gomord V. and Michaud D. (2008). Preventing unintended proteolysis in plant protein biofactories. *Plant Biotechnology Journal*. 6: 633-48.
3. Chen M. Liu X. Wang Z. Song J. Qi Q. and Wang P.G. (2005). Modification of plant N-glycans processing: the future of producing therapeutic protein by transgenic plants. *Medicinal Research Reviews*. 25: 343-60.
4. Cramer C.L. Weissenborn D.L. Dishi K.K. Graban E.A. Bennett S. Ponce E. Grabowski G.A. and Radin D.N. (1998). Bio production of human enzymes in transgenic tobacco. In collins G.B and shepherd R.J (eds) *Engineering plants for commercial products and applications*. Ann. N. Y. A and Sci. New York , pp: 62-71
5. Daniell H. stephen J.S. and wycoff K. (2001). Medical Molecular farming: Production of antibodies biopharmaceuticals and edible vaccines in plants. *Trands in plant science*. 615: 219-26
6. Ferrante E. and Simpson D. (2001). A riview of the progression of transgenic plants used to produce plantibodies for human usage. *Jouranal of young investigators*. 4(1):125-31
7. Giddings G. (2001). Transgenic plants as protein factories. *Current opinion in Bitechnoology*. 12: 450-54.

8. Houdebine L.M. (2009). Production of pharmaceutical proteins by transgenic animals. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*. 32: 107–21.
9. Hu J. Ni Y. Dryman B.A. Meng X.J. and Zhang C. (2013). Immunogenicity study of plant-made oral subunit vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vaccine*. 30: 2068 – 2074.
10. Khoudi H. Laberge S. Ferullo J.M. Bazin R. Darveau A. Castonguay Y. Allard G. Lemieux R. and Vézina L.P.(1999). Production of a diagnostic monoclonal antibody in perennial alfalfa plants. *Biotechnology and Bioengineering*. 64: 135-143.
11. Kumar G.B.S. Ganapathi T.R. Bapat V.A. (2009). Production of hepatitis B surface antigen in recombinant plant systems: an update. *Biotechnolgy Progress*. 23: 532–9.
12. Liu C.W. Chen J.J.W. Kang C.C. Wu C.H. and Yiu C.C. (2012). Transgenic lettuce (*Lactuca sativa* L.) expressing H1N1 influenza surface antigen (neuraminidase) *Scientia Horticulturae*.139: 8-13.
13. Muynck B. Navarre C. and Boutry M. (2010). Production of antibodies in plants: status after twenty years. *Plant Biotechnolgy Journal*. 8:529–63.
14. Richter L.J. Thanavala Y. Arntzen C.J. Mason H.S. (2000). Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization. *Nature Biotechnology*. 18: 1167-1171.
15. Tiwari S. Verma P. Singh P.K. and Tuli R. (2009). Plants as bioreactors for the production of vaccine antigens. *Biotechnology advances*. 27:449-467.
16. Walmsley A.M. and arntzen C.Y. (2000). plant for delivery of edible vaccines. *current opinion in biotechnology*.11:126-29.
17. Wang Y. Shen Q. Jiang Y. Song Y. Fang L. Xiao S. and Chen H. (2012). Immunogenicity of foot-and-mouth disease virus structural polyprotein P1 expressed in trangenic rice. *Journal of Virological Methods*. 181: 12-17
18. Xu J. Dolan M.C. Medrano G. Cramer C.L. and Weathers P.J. (2012). Green factory: Plants as bioproduction platforms for recombinant proteins. *Biotechnology Advances*. 30: 1171-1184.
19. Xu X. Gan Q. Clough R.C. Pappu K.M. Howard J.A. and Baez J.A. (2011) Hydroxylation of recombinant human collagen type I alpha 1 in transgenic maize co-expressed with a recombinant human prolyl 4-hydroxylase. *BMC Biotechnolgy*. 11:69.

20. Yonekura-Sakakibara K. Saito K. (2006). Genetically modified plants for the promotion of human health. *Biotechnology Letters*. 28:1983–91.
21. Yoshida K. Maatsui T. and shinmyo A. (2004). The plant vesicular transport engineering for production of useful recombinant proteins. *Journal of molecular catalysis B: Enzymatic*. 28(4-6): 167-71.