



تولید واکسن در گیاه بر علیه بیماری‌های ویروسی زئونوز

مجتبی نوفلی^{۱*}، سیده سمیرا آقامیری^۲

۱- عضو هیات علمی (دانشیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

۲- سیده سمیرا آقامیری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات

*نویسنده مسئول: مجتبی نوفلی noofeli1234@yahoo.com

چکیده

میکروب‌های بیماری‌زا همیشه خطرات و چالش‌های جدی به انسان تحمیل می‌کنند. این میکروب‌ها در طی تاریخ زندگی بشر، باعث وقوع همه‌گیری‌های گسترده و مرگ و میر میلیون‌ها نفر شده‌اند. موثرترین راه محدود کردن گسترش بیماری‌های ویروسی و باکتریایی در انسان و حیوان و همچنین جلوگیری از ابتلای به بیماری، واکسیناسیون می‌باشد. اگر چه واکسن‌های مرسوم و متداول اثربخش هستند، با این حال بالا بودن هزینه‌های تولید، طولانی بودن فرآیندهای خالص سازی، لزوم انجام برخی آزمایشات و رعایت الزامات ایمنی زیستی از جمله نقاط ضعف آنها می‌باشند. گیاهان علاوه بر این که یک منبع مهم غذایی و یا مواد خام کارخانه‌ها به شمار می‌آیند، کارخانه‌های سبز مولد محصولات زیستی ارزشمند از جمله زیست‌دارو (بیوفارماسوتیکس^۱) و واکسن‌ها می‌باشند. واکسن‌هایی که در گیاه ساخته می‌شوند، مزایایی نسبت به واکسن‌های متعارف دارند از جمله راحتی تولید، نگهداری، بازده بالا، بی‌ضرری و پایداری بیشتر.

کلمات کلیدی

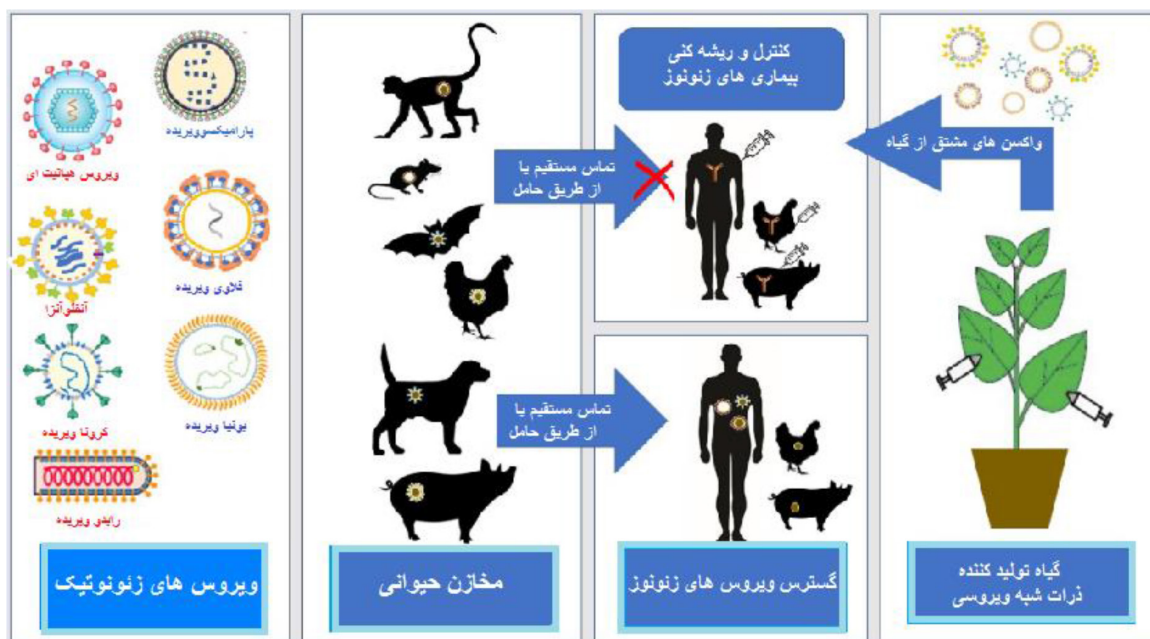
واکسن، گیاه، بیماری، ویروسی

1. Bio pharmaceuticals.

بیان مساله و اهمیت موضوع

واکسن‌ها ابزارهای موثر در کاهش بیماری‌های عفونی در کشورهای توسعه‌یافته و به خصوص در کشورهای در حال توسعه هستند. بشر راه‌های مختلفی را برای غلبه در جنگ با میکروب‌ها و به خصوص ویروس‌ها به کار گرفته است. ویروس‌ها، به عنوان یک انگل اجباری با ترکیبی از مولکول‌های زیستی برای تکثیر، نیاز به سلول زنده میزبان دارند. ویروس‌های مشترک بین انسان و حیوانات مهره دار (زئونوزیس)، در قالب بیماری‌های بازپدید و نوظهور، از تهدیدهای مهم و فزاینده با مرگ و میر بالا در انسان و دام بوده و خسارات اقتصادی فراوانی را به همراه دارند. بیش از ۶۰ درصد بیماری‌های عفونی نوظهور در انسان، زئونوز هستند که در اکثر موارد عامل بیماری می‌باشد. شیوع همه‌گیری اخیر کوید-۱۹ منجر به مرگ بیش از ۵ میلیون نفر در دنیا تا سال ۲۰۲۱ شد که اهمیت ویروس‌های زئونوز را آشکار می‌کند که از طریق تماس مستقیم و یا غیرمستقیم منتقل می‌گردند. در نوع انتقال غیرمستقیم، ویروس‌هایی که چرخه انتقال شان بین مخزن حیوانی (محل تکثیر اولیه) و ناقلین آنها مثل کته و مگس صورت می‌گیرد اصطلاحاً ویروس‌های منتقله از

بندپایان یا آربوویروس‌ها گفته می‌شوند. آربوویروس‌ها قبل از انتقال به میزبان حساس، می‌بایست در ناقلین بندپا تکثیر پیدا کنند. از ویروس‌های مهم زئونوز می‌توان به انفلوانزای آ، خانواده کرونا ویروس‌ها، زیکا، آنسفالیت ژاپنی، تب زرد، ابولا، ماربورگ، تب خونریزی دهنده کریمه-کنگو، تب دره ریفت، چیکونگونیا، هاری، خانواده رتروویرده مثل ویروس ایدز و نیز تب دنگ که این روزها در بعضی از مناطق ایران دیده شده است اشاره کرد (تصویر ۱). لازم به ذکر است که بعضی از ویروس‌ها مثل ویروس ایدز در ابتدا یک ویروس زئونوز شناخته می‌شد که با جهش‌های ژنی که داشته است دیگر به عنوان یک ویروس زئونوز شناخته نمی‌شود. با این حال، هنوز هم واکسیناسیون یکی از ضروری‌ترین روش‌های کنترل زئونوزها و ممانعت از انتشار ویروس‌های با عفونت‌زایی بالا در دنیا می‌باشد که مهمترین اقدام در این راستا تولید واکسن‌هایی است که به طور گسترده در اختیار انسان‌ها و حیوانات باشد. سیستم تولید و بیان واکسن در گیاه از این حیث می‌تواند در مقایسه با روش‌های معمول تولید واکسن به عنوان جانشینی مناسب به خصوص در واکسیناسیون حیوانات باشد (تصویر ۱).



شکل شماره ۱- انتقال ویروس‌های مشترک بین انسان و حیوانات مهره‌دار (زئونوز). مخازن حیوانی از جمله خفاش، میمون، سگ، خوک، موش و ... می‌توانند ویروس‌های زئونوز را از طریق تماس مستقیم یا از طریق حامل مثل کته و پشه به انسان منتقل کنند. از طریق تولید واکسن ذرات شبه ویروسی^۱ در گیاه می‌توان مانع از ایجاد بیماری توسط ویروس‌ها در انسان شد (رفرانس ۱).

1. Virus Like Particles.

سیستم‌های تولید واکسن در گیاه یک روش جایگزین مناسب برای تولید واکسن در مقایسه با روش‌ها و سیستم‌های بیانی معمول می‌تواند باشد.

امروزه بیش از سه دهه از تولید پروتئین‌های نو ترکیب درمانی در گیاه به خصوص واکسن‌های ساب یونیت و ذرات شبه ویروسی برای مقابله با بیماری‌های نوظهور می‌گذرد. گیاهان ظرفیت بالایی در تولید واکسن‌ها به خاطر بی‌ضرری، اثربخشی و سیستم بیانی صنعتی دارند. از دیگر خصوصیات قابل توجه تولید واکسن در گیاه، افزایش میزان تولید، کاهش هزینه‌های تولید و خالص‌سازی، افزایش پایداری پروتئین نو ترکیب، تولید سریع کمیت بالای پروتئین نو ترکیب در کمتر از یک هفته به خاطر رویکرد بیان گذرا و ساختارهای اصلاحی گلیکوزیلاسیون در مقایسه با روش‌های معمول و تجاری بیان پروتئین در میکروب‌ها، جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است. واکسن در گیاه به خصوص برای مصارف دامپزشکی به سبب احتمال مصرف خوراکی واکسن‌های نو ترکیب، هزینه تولید پائین با عمر قفسه‌ای طولانی در موارد استفاده از غلات، بسیار امیدوار کننده بوده است که نام‌هایی همچون «مزرعه مولکولی گیاهی»^۲ را به خود اختصاص داده است. فرآیند تولید واکسن در گیاه بر اساس سه نوع تکنولوژی بیان گذرا^۳، گیاهان تراریخته پایدار^۴ و کشت‌های معلق سلول‌های گیاهی^۵ انجام می‌گردد. در نوع بیان گذرا در گیاهان، راندمان بالاتر پروتئین‌های نو ترکیب در زمان کوتاه‌تر نسبت به گیاهان پایدار، پاسخ سریع و موفقیت‌آمیزی در بیماری‌های ویروسی نوظهور مثل انفلوانزا و کووید-۱۹ از خود نشان داده است. تولید پروتئین‌های نو ترکیب با استفاده از تکنولوژی بیان گذرا بر اساس حامل‌های ویروس‌های RNA به خاطر مزیت‌هایی همچون مهندسی ساده و راحت، سطح بالای میزان تولید پروتئین مورد نظر، قابل تولید در مقیاس بالا، ریسک و هزینه پائین‌تر محبوبیت خاصی پیدا کرده است. در این روش، بیشتر از ویروس‌های (+RNA) کوچک مثل ویروس موزائیک تنباکو، ویروس موزائیک لوبیای چشم بلبلی (cowpea) و یا ویروس X سیب‌زمینی به عنوان حامل برای تولید پروتئین تجاری استفاده می‌شود. بیان گذرا همچنین با نام آگرواینفیلتراسیون^۶، با معرفی ژن مورد نظر به برگ گیاه از طریق انفیلتراسیون آن توسط آگروباکتریوم تومفاسینس که حاوی حامل ژن مربوطه است صورت می‌گیرد (تصویر ۲). مزایای این رویکرد باعث شده است که چندین کمپانی بزرگ دارویی از جمله شرکت کانادایی مدیکاگو^۷،

در بیش از دو دهه اخیر، اهمیت تولید واکسن در گیاه به خاطر ناکافی بودن توانمندی و بی‌ضرری واکسن‌های معمول در مواجهه با بیماری‌های نوپدید و نوظهور بسیار افزایش یافته است که می‌تواند بر نواقص فوق در تولید واکسن به خصوص پروتئین‌های نو ترکیب غلبه نمایند. تولید واکسن در گیاه دارای پتانسیل‌های بالایی از جمله اثربخشی، بی‌ضرری و سیستم بیانی بالا در مقایسه با روش‌های معمول تولید واکسن به خود اختصاص می‌دهد. افزایش بازده، کاهش هزینه‌های تولید و خالص‌سازی، افزایش پایداری پروتئین نو ترکیب و نیز اصلاح ساختارهای گلیکوزیلاسیون گیاهی باعث شده است که سیستم‌های بیان پروتئین در گیاه نسبت به سیستم‌های بیان میکروبی جایگاه قابل رقابتی را پیدا کنند. امکان تولید واکسن در گیاه با تولید واکسن‌هایی بر علیه بیماری‌هایی همچون انفلوانزا تیپ A و نیوکاسل به منصف ظهور دست یافته که توانسته است مجوزهای استفاده در بازار را به دست آورد. علی‌رغم بیش از دو دهه تحقیقات گسترده در خصوص تولید واکسن در گیاه، هنوز چالش‌ها و موانعی برای تولید صنعتی آن‌ها از جمله محدودیت‌های قوانین مربوط به «موجودات اصلاح شده ژنتیکی» یا GMO^۱ و دارویی وجود دارد. با این حال واکسن انسانی بر علیه کووید-۱۹ و انفلوانزا با نام تجاری Covifenz و با همکاری سانوفی و GSK توانسته است اولین واکسن انسانی بر پایه گیاه و مبتنی بر تکنولوژی ذرات شبه ویروسی (Virus like particles) باشد که مجوزهای لازم برای استفاده در بازار را پیدا کرده است. بر اساس تکنولوژی مبتنی بر بیان گذرا، به خاطر تولید سریع و میزان بالای پروتئین نو ترکیب در کمتر از یک هفته، تولید واکسن در گیاه بسیار جذاب به نظر می‌آید به خصوص در موارد اورژانسی که نیاز به واکسن در شرایط همه‌گیری هست.

دستاوردها

واکسیناسیون یکی از اساسی‌ترین روش‌های ریشه‌کنی بیماری‌های مشترک انسان و دام و گسترش ویروس‌های بیماری‌زا و نیز جهت رسیدن به رویکرد سازمان بهداشت جهانی در قالب "یک طرح بهداشت جهانی" (Global One Health Initiatives) می‌باشد. هدف از این رویکرد، همکاری گروه‌های مختلف در عرصه‌های ملی و بین‌المللی در جهت رسیدن به بهداشت مناسب برای انسان‌ها، حیوانات و محیط زیست است. مأموریت این طرح، تلاش برای جلوگیری از انتقال بین گونه‌ای بیماری‌های عفونی، ارزیابی تأثیرات اجتماعی و محیطی و نهایتاً توسعه سیاست‌گذاری‌های علمی بر مبنای مدیریت خطر می‌باشد. یکی از مهم‌ترین اقدامات در این رویکرد، تولید واکسن‌هایی است که برای هم انسان‌ها و هم حیوانات به طور وسیع قابل دسترس باشد. از این حیث،

1. Genetically Modified Organism.

2. Plant molecular farming.

3. Transient expression.

4. Stable transgenic plants.

5. Plant cell-suspension cultures.

6. Agro-infiltration.

7. Medicago.

محصولات غلات برای نگهداری طولانی مدت مناسب هستند و گیاهی همچون تنباکو به عنوان یک مدل گیاهی برای دستیابی به سطوح بالای بیان پروتئین نوترکیب مناسب است.

ذرات شبه ویروسی به عنوان واکسن‌های موثر و بی‌ضرر بر علیه بیماری‌های ویروسی شناخته شده‌اند. این ذرات شبیه ساختار خارجی ویروس‌ها (اندازه و ترکیب) بدون مواد ژنتیکی می‌باشند که آن‌ها را غیر عفونی می‌سازد. این ذرات خواص آنتی‌ژنیک ویروس‌های طبیعی را حفظ می‌کنند و می‌توانند پاسخ‌های ایمنی با واسطه آنتی‌بادی و سلولی را تقلید کنند. این ذرات می‌توانند ترکیبی از پروتئین‌های ساختاری یک یا چند تایپ ویروس باشند. ترکیب این پروتئین‌های ساختاری یا اپی‌توپ‌های ایمونوژنیک از ویروس‌های مختلف با نام ذرات شبه ویروسی متفاوت یا کایمیریک^{۱۴} خوانده می‌شوند. بیان واکسن‌های بر پایه ذرات شبه ویروسی در گیاهان و بر علیه بیماری‌های مشترک بین انسان و دام، سرطان، آلرژی‌ها و بیماری‌های خودایمن انجام شده است که در حال حاضر مراحل فازهای بالینی خود را می‌گذرانند. از جمله بیماری‌های ویروسی مشترک بین انسان و دام می‌توان به ویروس‌های انفلوانزا اشاره کرد. انفلوانزای تیپ آ و ب برای سلامتی انسان اهمیت دارند. اگرچه که انفلوانزای تیپ ب فقط انسان را گرفتار می‌کند ولیکن تیپ آ هم انسان و هم پستانداران و پرندگان را گرفتار می‌کند. ویروس انفلوانزای تیپ آ یک ویروس زئونوز است که می‌تواند با تغییر میزبان خود باعث همه‌گیری گسترده شود. این ویروس پوشش‌دار حاوی دو گلیکوپروتئین با نام‌های هم‌گلوتنین و نورآمینیداز می‌باشد که بر علیه آنها آنتی‌بادی برای محافظت ایجاد می‌گردد. تا به حال ۱۸ هم‌گلوتنین و

14. Chimeric VLPs.

شرکت‌های آمریکایی کنتاکی^۸، آونزبورو^۹ و فرانهور^{۱۰} بر روی این روش در گیاه برای تولید سریع و حجم بالای واکسن‌ها و داروها سرمایه‌گذاری بسیاری را انجام دهند. در ابتدا حامل‌های ویروسی بیان‌کننده، علاوه بر ژن مورد نظر ژن‌های خود ویروس را هم بیان می‌کردند که با تغییرات ژنتیکی که در آنها داده شد توانستند به راندمان بالاتر و پایداری بهتر کمپلکس ویروسی دست یابند. در رویکرد دوم یعنی انتقال پایدار گیاهی، اگر چه زمان طولانی‌تری می‌برد ولی هنگامی که اپتیمایز شود منجر به تولید در مقیاس بالا و طولانی می‌شود. در این روش از گونه‌های مختلف گیاهی مثل تنباکو، سیب‌زمینی، غلات، کاهو، گوجه‌فرنگی، هویج و دانه‌های روغنی برای انتقال پایدار از طریق دستکاری‌های ژنومی هسته و کلروپلاست استفاده شده است. اصلی‌ترین رویکرد برای رسیدن به گیاه پایدار در این روش استفاده از فرآیندهای انتقال با واسطه آگروباکتریوم و یا انتقال اسید نوکلئیک به سلول با بمباران ذرات با سرعت بالا (بایولیستیک^{۱۱}) بوده است (تصویر ۳). گاه‌ها کلروپلاست به جای هسته به دلیل انتقال پایدار و تکثیر زیاد آن در سلول گیاهی که منجر به تولید بالای پروتئین نوترکیب می‌گردد، هدف مناسب‌تری است. انتخاب نوع رویکرد برای تولید پروتئین نوترکیب در گیاه، بستگی به مسیر^{۱۲} تزریق، توانایی دستیابی به بیان بالای پروتئین نوترکیب و فرآیندهای پائین دستی^{۱۳} دارد. گیاهان خوراکی مثل سیب‌زمینی، کاهو، هویج، برنج و ذرت برای تجویز خوراکی مناسب هستند.

8. Kentucky Bioprocessing Inc.

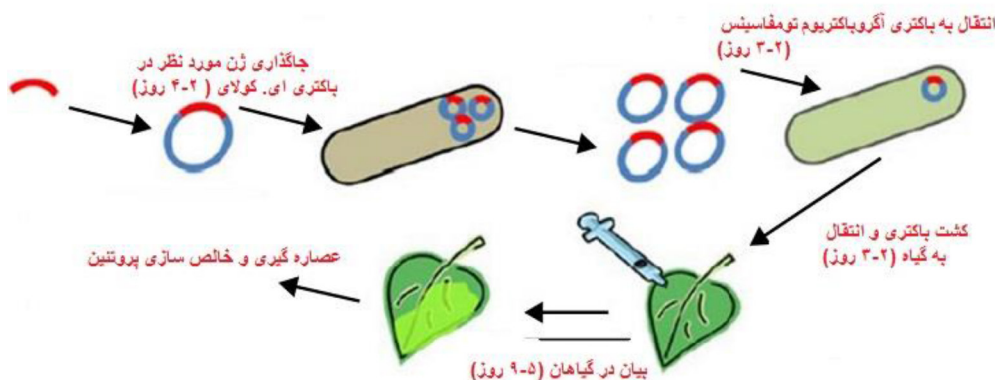
9. Owensboro.

10. Fraunhofer.

11. Biolistic.

12. Route.

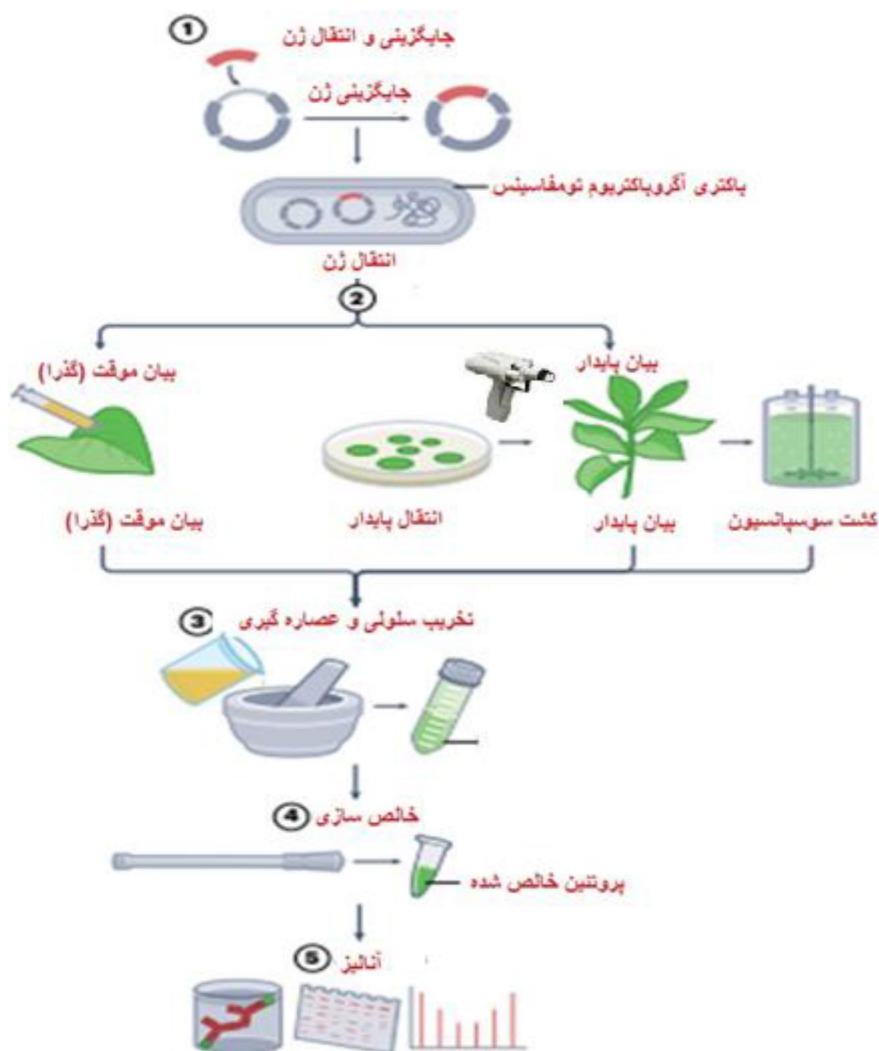
13. Downstream processing.



تصویر شماره ۲- تشریح تصویری بیان گذرا با استفاده از حامل. کلونینگ ژن در باکتری ای کولای و انتقال آن به آگروباکتریوم تومفاسینس برای اینفیلتراسیون به گیاه (آگرواینفیلتراسیون) و سپس عصاره‌گیری و خالص‌سازی (فرانس ۲).

واکسن و تولید را به خود اختصاص می‌دهد. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، سالانه بین ۲۵۰ تا ۵۰۰ هزار نفر مرگ و میر به علت ابتلا به انفلوانزا در دنیا ثبت می‌گردد و معضل کمبود این واکسن در دنیا به خصوص

۱۱ نورآمینیداز تعیین هویت شده‌اند که فقط ۴ تا هماگلو تینین (۱، ۲، ۳ و ۵) و دو مورد نورآمینیداز (۱ و ۲) پتانسیل خطر همه‌گیری را دارند. از این دو گلیکوپروتئین، هماگلو تینین آنتی‌ژن قوی‌تری می‌باشد و تمایل بیشتر برای استفاده در



تصویر شماره ۳- تولید پروتئین نو ترکیب در گیاه. حاملین (وکتور) بیانی، که ژن مورد نظر را حمل می‌کنند، به داخل باکتری آگروباکتریوم تومفاسینس و از آنجا به گیاه برای بیان پایدار (آگرو-ترانسفورماسیون^۱) یا گذرا (آگرو-اینفیلتراسیون^۲) منتقل می‌گردد. در بیان گذرا، سوسپانسیون باکتریایی (حاوی پلاسمید) از طریق اینفیلتراسیون به داخل برگ‌ها از طریق دستی با سرنگ (حجم کم) و یا اینفیلتراسیون با واکيوم (حجم بالا) انجام می‌گردد. در بیان پایدار، از بمباران ذرات با سرعت بالا (بایولیستیک) برای انتقال ژن به داخل برگ گیاه (کلروپلاست یا هسته) استفاده می‌گردد. متعاقب اینفیلتراسیون، ماشین بیان گیاهی شروع به بیان ژن مربوط در عرض چند روز می‌نماید. سپس بافت‌ها و یا سلول‌ها جمع‌آوری و عصاره‌گیری می‌گردند و در نهایت تخلیص و آنالیز فرآورده صورت می‌گیرد (رفرانس ۳).

1. Agro-transformation.
2. Agro-infiltration.

برگ و ریشه گیاه تنباکو و مصرف خوراکی آن در موش، افزایش تیتراژی از ایمنوگلوبولین های G و ترشحی A را به همراه داشته است (۴).

از دیگر بیماری های ویروسی که امروزه شیوع آن در کشور ما در حال افزایش است می توان به تب دنگ که توسط ویروسی به همین نام که توسط پشه ها^{۱۶} به انسان منتقل می گردد، اشاره کرد. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی بیش از ۳/۶ میلیارد نفر در دنیا در خطر عفونت این ویروس قرار دارند و از این تعداد بیش از ۲۰۰ میلیون نفر مبتلا می شوند و بیش از ۲۱ هزار نفر مرگ و میر به جا خواهد گذاشت (۵). تب دنگ یک بیماری حاد تب دار ویروسی است که ممکن است علائمی از خود نشان ندهد و یا منجر به یک تب خود محدود شونده و یا تب خونریزی دهنده شدید و نشانگان شوک دنگ^{۱۷} شود. بنابراین نیاز به تولید یک واکسن بی ضرر و در مقیاس بالا (قابل تولید صنعتی) می باشد که تولید در گیاه راه حل مناسبی برای این معضل خواهد بود.

از دیگر بیماری های آندمیک کشور ما هاری^{۱۸} است که توسط ویروسی به همین نام و از طریق گزش حیوانات آلوده به انسان منتقل می گردد. مرگ و میر در انسان زمانی که علائم ظاهر گردند تقریباً ۱۰۰ درصد است. البته مرگ و میر در حیوانات دیگر همچون سگ بسیار کمتر است و به حداکثر ۱۴ درصد می رسد (۶). کاندیدهای واکسن هاری در گیاه بر اساس پروتئین های سطحی و نوکلئوپروتئین می باشند. از گیاه تراریخته تنباکو در بیان پروتئین سطحی آن استفاده شده است که بعد از عصاره گیری برگ آن و نهایتاً تخلیص، تزریق در موش همراه با ایمنی مناسبی بوده که توانسته در چالش با ویروس وحشی، کاملاً محافظت کننده باشد (رفرانس ۷). همچنین با مصرف خوراکی پروتئین سطحی آن به میزان ۲ میلی گرم که در غلات بیان شده بود نتایج قابل مقایسه ای نسبت به واکسن تجاری داشته است. اساساً غلات به خاطر تجمع بالای پروتئین نوترکیب در آن و احتمال نگهداری طولانی در دمای محیط، گزینه های جذابی از این نظر می باشند (۸).

دیگر بیماری های ویروسی همچون آنفلوآنزای پرندگان و بیماری نیوکاسل، همراه با مرگ و میر و خسارت های اقتصادی در صنعت طیور می باشند. با این حال علیرغم وجود و در دسترس بودن واکسن های تجاری برای این دو بیماری، امنیت غذایی جهانی به خاطر این دو بیماری در معرض خطر می باشد. از جمله عواملی که می توان برای این تهدید برشمرد، هزینه های واکسیناسیون، زنجیره سرد برای نگهداری ویروس تخفیف حدت یافته واکسن و نیز ضعف واکسن های تجاری برای حفاظت بر علیه سویه های بومی

در موارد همه گیری و یک پاسخ سریع به تولید این واکسن از ضروریات می باشد. استفاده از تولید واکسن در گیاه در پاسخ به موارد اورژانسی مثل همه گیری آنفلوآنزا می تواند تکنولوژی قابل اعتمادی باشد. همین مسئله باعث شده است که در سال ۲۰۰۹ "آژانس پروژه های تحقیقاتی پیشرفته دفاعی در آمریکا" مبلغ ۱۰۰ میلیون دلار در چهار کمپانی فرانوفر، کنتاکی، مدیکاگو و مرکز بیوتکنولوژی مولکولی برای تولید ۱۰۰ میلیون دوز واکسن آنفلوآنزا به مدت یک ماه، سرمایه گذاری کند. شرکت مدیکاگو در سال ۲۰۱۲ توانست ۱۰ میلیون دوز واکسن آنفلوآنزا (H1N1) را در یک هفته بر اساس تجارب قبلی و با استفاده از حامل های بیانی گذرا تولید کند. بیان پایدار ایمنوژن های آنفلوآنزا در مقایسه با بیان گذرا به خاطر کمیت پائین تر بیان، کمتر استفاده شده است. بعد از همه گیری کرونا ویروس و بیماری کووید-۱۹، اولین گزارش موفقیت آمیز تولید واکسن بر علیه کووید-۱۹ به صورت بیان گذرا در گیاه بنتامیانا (*N. benthamiana*) مربوط به شرکت مدیکاگو بود که توانست با موفقیت فازهای کلینیکی ۱، ۲ و ۳ را پشت سر بگذارد و در ادامه با همکاری شرکت GSK توانست تولید این واکسن در گیاه را با ۷۱ درصد اثربخشی بر علیه کلیه واریانت های این ویروس به سرانجام برساند. از دیگر عوامل ویروسی مشترک بین انسان و دام که پتانسیل تبدیل به یک عامل بیوتروریسم را در خود دارد، ویروس ابولا است که بیماری تب خونریزی دهنده شدید در انسان و پریمات های غیر از انسان را ایجاد می کند. این بیماری به صورت دوره ای در آفریقای مرکزی شیوع پیدا می کند و ویروس آن متعلق به جنس ابولا ویروس و خانواده فیلوویریده می باشد. در سال های اخیر موفقیت هایی در فازهای کلینیکی تولید واکسن بر علیه فیلوویروس ها به دست آمده است. با این حال تولید واکسن در گیاه در مقایسه با تولید معمول واکسن، اثربخشی مناسبی داشته است. ویروس ماربورگ هم که از خانواده ویروس های ابولا می باشد، باعث تب خونریزی دهنده می شود و پتانسیل استفاده به عنوان سلاح بیولوژیک را دارد. اگرچه تا به حال گزارشی از تولید واکسن بر علیه این بیماری در گیاه وجود ندارد، با این حال بر اساس دانش مشابه تولید واکسن بر علیه ابولا در گیاه، به آینده تولید این واکسن در گیاه می توان خوشبین بود.

از دیگر بیماری های ویروسی مشترک بین انسان و دام می توان به تب خونریزی دهنده کریمه-کنگو اشاره کرد که توسط گزش کنه (جنس هیالوما^{۱۵}) و توسط بافت یا خون حیوان آلوده که بدون علامت می باشد، به انسان منتقل می گردد. با توجه به عدم وجود یک واکسن تأیید شده، بیماری زائی بالا و افزایش شیوع این بیماری، تحقیق و تولید در خصوص واکسن این بیماری به ویژه در گیاه اهمیت به سزایی خواهد داشت. بیان گلیکوپروتئین های ایمنی زای این ویروس در

15. Hyalomma genus.

16. *Aedes aegypti* & *A. albopictus*.

17. Dengue Shock Syndrome.

18. Rabies.

نظر بیماری‌زایی به دو گروه تقسیم می‌گردد که نوع خفیف (Low) آن شایع‌ترین ولی با این وجود اثرات اقتصادی مهمی را در بر دارد. با این وجود نوع خفیف آن مثلاً H9N2 در اواخر دهه ۱۹۹۰ در کشورهای خاورمیانه، آفریقا، آسیا و اروپا شیوع پیدا کرد و با علایم تنفسی خفیف تا شدید، کاهش تولید تخم و افزایش میزان مرگ و میر تا ۲۰ درصد، خسارات فراوانی را به بار آورد.

ویروس نیوکاسل از خانواده پارامیکسوویریدها می‌باشد که گلیکوپروتئین‌های سطحی آن مثل فیوژن و هم‌گلوپتینین-نورآمینیداز مهم‌ترین پروتئین‌های ایمنی‌زای آن و اهدافی برای طراحی واکسن می‌باشند. ویروس نیوکاسل به شدت بیماری‌زا و اغلب در پرندگان و طیور کشنده می‌باشد. علامت ابتلای انسان که به صورت التهاب ملتحمه چشم می‌باشد از طریق تماس مستقیم با طیور صورت می‌گیرد. تا

نوظهور می‌باشند. سیستم‌های بیان‌گذرای ژن در گیاهان تراریخته، ابزاری بسیار کارآمد با راندمان بالای بیان پروتئین نو ترکیب با فایده مقرون به صرفه را تدارک دیده است.

ویروس انفلوآنزای پرندگان به ۱۶ هم‌گلوپتینین و ۹ نورآمینیداز ساب تایپ دسته‌بندی می‌گردد که ترکیبات زیادی از این دو مثلاً H5N1 به وجود می‌آیند. این ویروس به خاطر خواص طبیعی قطعه‌ای ژنوم آن و وقوع دسته‌بندی مجدد^{۱۹} با دیگر ساب تایپ‌ها (شیفت آنتی‌ژنی^{۲۰}) و نیز عدم وجود تصحیح پلیمرازی ویروس در زمان همانندسازی (دریفت آنتی‌ژنی^{۲۱})، منجر به توانایی ویروس برای فرار از پاسخ سیستم ایمنی می‌گردد. ویروس انفلوآنزای پرندگان از

19. Reassortment.

20. Antigenic shift.

21. Antigenic drift.



شکل شماره ۴- خلاصه مراحل تولید واکسن بر پایه گیاه. در ابتدا ژن مربوط به پروتئین یا آنتی ژن مورد نظر (هدف) برای استفاده در واکسن انتخاب می‌گردد (مرحله اول). سپس طراحی آن انجام می‌شود (مرحله دوم) و انتقال ژن به حامل مناسب (مرحله سوم) و نهایتاً به آگروباکتریوم توئمفاسینس (مرحله چهارم) برای انتقال به گیاه مناسب (مرحله پنجم) صورت می‌گیرد. پس از بیان پروتئین هدف در گیاه، عصاره گیری از گیاه و سپس فیلتراسیون و تخلیص (مرحله ششم) به منظور فورمولاسیون و نهایتاً تزریق به حیوان هدف (مرحله هفتم) برای ایجاد ایمنی انجام می‌شود (رفرانس ۹).

توصیه ترویجی

قرن بیست و یکم شاهد پیشرفت‌های چشمگیری در تولید واکسن بر پایه گیاه بر علیه بیماری‌های ویروسی بوده است. اگرچه اکثر این پیشرفت‌ها در حد مطالعات آکادمیک از جمله غیربالینی و یا بالینی می‌باشد ولیکن تولید واکسن در گیاه بر علیه کووید ۱۹ و یا انفلوانزا به ترتیب توسط "مدیکاگو" و "کنتاکی بیوپروسسینگ" با اخذ مجوزهای مربوطه، امیدی شگرف را با خود به ارمغان آورده است. فرآیند شیف‌ت از بیان پایدار به بیان گذرا که سریع‌تر (در عرض یک هفته) و با راندمان بیشتر می‌باشد، فرصتی استثنایی برای واکنش و پاسخ سریع به سویه‌های ویروسی نوظهور مثل انفلوانزا که سالانه رخ می‌دهد و یا همه‌گیری‌های غیر قابل انتظار را فراهم نموده است. علاوه بر این، موفقیت‌های اخیر در زمینه تولید ذرات شبه‌ویروسی در گیاه و نیز بیان پروتئین‌های نوترکیب با ساختار طبیعی و بدون تغییر که ایمنی‌زایی و نهایتاً اثربخشی بهتری را با خود به همراه خواهد آورد، از مزایایی است که تمایل به سرمایه‌گذاری در این عرصه از تولید را به خود معطوف کرده است. عوامل موثر بر زمان رسیدن به بازار^{۲۸}، زمان مورد نیاز برای تحقیق و توسعه، قابلیت تولید در مقیاس بالا و اخذ مجوز سازمان‌های نظارتی، چهار عاملی هستند که سیستم بیانی را تعیین می‌کنند که دو عامل اول، بر اهمیت زمان در رسیدن به محصول را تأکید می‌ورزد. واکسن‌های بر پایه گیاه، علاوه بر توان جلوگیری و حفاظت از بیماری، از نظر هزینه-فایده نیز مقرون به صرفه هستند.

فهرست منابع

- 1- Zahmanova G, Takova K, Valkova R, Toneva V, Minkov I, Andonov A, Lukov GL. Plant-derived recombinant vaccines against zoonotic viruses. Life (Basel). 2022 Jan 21;12(2):156.
- 2- Mohsen MO and Bachmann MF. Virus-like particle vaccinology, from bench to bedside. Cell Mol Immunol. 2022 Sep; 19(9): 993–1011.
- 3- Eidenberger L, Kogelmann B, Steinkellner H. Plant-based biopharmaceutical engineering. Nature Review Bioengineering. 2023 March 426–439.
- 4- Ghiasi SM, Salmanian AH, Chinikar S, Zakeri S. Mice Orally Immunized with a Transgenic Plant Expressing the Glycoprotein of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus. Clin. Vaccine Immunol. 2011 18, 2031–2037.
- 5- Murugesan A, Manoharan M. In Emerging and Reemerging Viral Pathogens. Chapter 16—Dengue

28. Vector.

به حال گزارشی از بیماری نیوکاسل در انسان در اثر مصرف محصولات طیور داده نشده است. این بیماری به شدت بر روی صنعت طیور با مرگ و میر و عوارض بالا تأثیرگذار است که برای جلوگیری از آن، واکسیناسیون در مقیاس وسیع در خیلی از کشورها کاربرد دارد. به همین خاطر بیان پروتئین‌های فیوژن و هماگلانتینین-نورآمینیداز این ویروس در سیستم‌های گیاهی به کار گرفته شده است (۹). در سال ۲۰۱۶ یک شرکت آمریکایی موفق به تولید واکسن نیوکاسل و اخذ مجوز غذا و داروی آمریکا گردید که بر اساس کاربرد تزریقی مشتق گیاهی پروتئین هماگلوتنین-نورآمینیداز در کشت سلولی بنتامیانا^{۲۲} بود (۱۰).

در مرحله اول انتخاب آنتی‌ژن مناسب برای انتقال به گیاه و بیان آن بسیار اهمیت دارد (تصویر ۴). گلیکوپروتئین‌های ویروسی آنتی‌ژن‌های عالی برای واکسن‌های مصرف دامپزشکی هستند که آنتی‌بادی بر علیه آنها محافظت‌کننده می‌باشد. ژن هدف یا با روش‌هایی مثل PCR^{۲۳} افزایش می‌یابند و یا به منظور کاهش دست‌ورزی ویروس‌های خطرناک، سنتز می‌گردند. طراحی ژن بر اساس تغییراتی در آن که قابل بیان در گیاه با راندمان بالا باشد انجام می‌گردد. بیان پروتئین به صورت گذرا و یا پایدار انجام می‌گیرد. در روش انتقال پایدار، ژن مورد نظر به صورت دائم در داخل ژنوم سلول گیاهی از طریق هسته یا پلاستید قرار داده می‌شود. انتقال با استفاده از آگروباکتریوم تومفاسینس^{۲۴} و یا اگر در دسترس نباشد توسط بایولیستیک و یا بمباران میکروپارتیکل انجام می‌گردد (شکل ۳). یکی از ایرادات این سیستم طولانی بودن زمان انجام آن، راندمان پائین پروتئین و طبیعت ورود تصادفی ژن به داخل هسته که بر روی بیان به خاطر تنظیمات اپی‌ژنتیک^{۲۵} و اثرگذاری پدیده خاموش کردن^{۲۶} می‌باشد. بر عکس در سیستم انتقال گذرا، نیازی به انتقال ژن مورد نظر در ژنوم گیاه برای بیان پروتئین نمی‌باشد. در این سیستم ممکن است از آگرواینفیلتراسیون برای تحویل حامل حاوی ژن مورد نظر به گیاه استفاده شود. آگرواینفیلتراسیون اشاره به معرفی آگروباکتریوم تومفاسینس حاوی حامل ژن^{۲۷} مورد نظر به فضاهای خارج سلولی برگ گیاه توسط سرنگ بدون سوزن و یا واکيوم دارد (شکل ۴). سیستم بیان گذرا، روشی ساده با راندمان بالای بیان پروتئین نوترکیب در کمتر از ۳ تا ۷ روز می‌باشد. این روش نگرانی‌های عمومی در خصوص تغییرات ژنتیکی و احتمال انتقال توسط پولن یا بذر این گیاهان را کاهش می‌دهد.

22. *N. benthamiana*.

23. Polymerase Chain Reaction.

24. *Agrobacterium tumefaciens*.

25. Epigenetic regulation.

26. Silencing phenomena.

27. Vector.



Virus. Academic Press. 2020 281–359.

6- Paoli J. Is Rabies Really 100% Fatal? Viruses101. Learn Science at Scitable. Available online: https://www.nature.com/scitable/blog/viruses101/is_rabies_really_100_fatal/ (accessed on 20 November 2021).

7- Ashraf S, Singh PK, Yadav DK, Shahnawaz M, Mishra S, Sawant SV, Tuli R. High Level Expression of Surface Glycoprotein of Rabies Virus in Tobacco Leaves and Its Immunoprotective Activity in Mice. J. Biotechnol. 2005 119, 1–14.

8- Loza-Rubio E, Rojas-Anaya E, López J, Olivera-

Flores MT, Gómez-Lim M, Tapia-Pérez G. Induction of a Protective Immune Response to Rabies Virus in Sheep after Oral Immunization with Transgenic Maize, Expressing the Rabies Virus Glycoprotein. Vaccine 2012, 30, 5551–5556.

9- Nurziah I, Elbohy OA, Kanyuka K, Daly JM, Dunham S. Development of plant-based vaccines for prevention of avian influenza and Newcastle disease in poultry. Vaccine (Basel). 2022 Mar 19;10(3):478.

10- Vermij, P. News In Brief. Nat. Biotechnol. 2006, 24, 233–234.

