بسم الله
الرحمن
الرحيم

معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری

ستاد توسعه زیست فناوری

آشنایی با کاربردهای زیست فناوری

جلد اول

معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری
ستاد توسعه زیست‌فناوری
برنامه ریزی و نظارت بر تالیف: گروه سرمایه انسانی، آموزش و ترویج ستاد توسعه زیست‌فناوری
مولفان: دکتر ابوالفضل لطفی، دکتر سعیده میلانی، مهندس زهرا جهانبخشیان داوران
مهندس سید مصطفی حسینی، زیر نظر دکتر سید مهدی سیدی
صفحه آرایی: آتلیه طراحی دیبا رنگ
چاپ دوم: تابستان ۱۳۹۶
لیتوگرافی ، چاپ و صحافی : دیبارنگ www.dibarang.com
ارتباط با گروه سرمایه انسانی، آموزش و ترویج ستاد توسعه زیست فناوری
آدرس پست الکترونیکی: manpower@biodc.isti.ir
تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۱۴۱۹۱-۶

کلیه حقوق مادی و معنوی این اثر متعلق به ستاد توسعه زیست فناوری و مولفین می باشد.

فهرست

پیشگفتار: ۱
مقدمه: ۲

بخش اول: ۵
۱- کاربردهای زیست فناوری در پزشکی ۵
۱-۱- زیست فناوری پزشکی ۶
۱-۲- کاربردهای زیست فناوری پزشکی در حوزه پیشگیری ۸
۱-۲-۱- واکسن نوترکیب ۸
۱-۲-۲- DNA واکسن ۱۱
۱-۳- کاربردهای زیست فناوری پزشکی در حوزه تشخیص ۱۲
۱-۳-۱- تستهای تشخیصی بر پایه تکثیر اسیدهای نوکلئیک ۱۲
۱-۴- کاربردهای زیست فناوری پزشکی در حوزه درمان ۱۷
۱-۵- برخی علوم موثر در پیشرفت زیست فناوری پزشکی ۲۲
۱-۵-۱- ژنومیکس ۲۳
۱-۵-۲- پروتئومیکس ۲۳
۱-۵-۳- بیوانفورماتیک ۲۵
۱-۵-۴- انتقال ژن ۲۵
۱-۵-۵- سلولهای بنیادی ۲۸
۱-۵-۶- مهندسی بافت ۳۰
۱-۵-۷- ویرایش ژن ۳۱

بخش دوم: ۳۴
۲- کاربردهای زیست فناوری در صنعت (زیست فناوری سفید) ۳۴
۲-۱- زیست فناوری صنعتی ۳۵
۲-۲- توسعه پایدار و نقش زیست فناوری صنعتی ۳۵
۲-۳- فرآیند کلی تولید محصول در برخی فرآیندها در زیست فناوری صنعتی ۳۷
۲-۴- کاربردهای زیست فناوری صنعتی ۳۹

فهرست

۲-۴-۱- سوخت زیستی ۴۰
۲-۴-۲- پروبیوتیک‌ها ۴۴
۲-۴-۳- استارتر کالچرها ۴۵
۲-۴-۴- آنزیم‌های صنعتی ۴۵
۲-۴-۵- اسیدهای آمینه ۴۹
۲-۴-۶- اسیدهای آلی ۵۰
۲-۴-۷- پلیمرهای زیستی ۵۲
۲-۴-۸- مواد آرایشی ۵۵
۲-۴-۹- یزجلبک ها یا میکروآلگ ها.استفاده از زیست فناوری صنعتی در محیط زیست ۵۷
۲-۴-۱۰- استفاده از زیست فناوری صنعتی در محیط زیست ۶۱

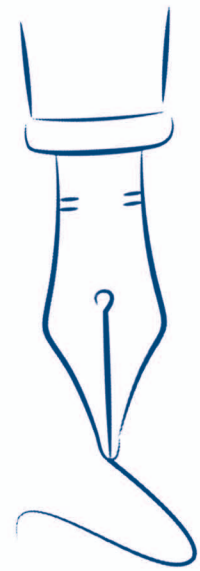
بخش سوم: ۶۲
۳- کاربردهای زیست فناوری در کشاورزی ۶۲
۳-۱- مقدمه: ۶۳
۳-۲- کاربردهای زیست فناوری در زراعت، باغبانی و اصلاح نباتات ۶۳
۳-۲-۱- کشت بافت گیاهی ۶۳
۳-۲-۲- مهندسی ژنتیک ۷۹
۳-۲-۳- نشانگرهای مولکولی ۸۵
۳-۳- کاربردهای زیست فناوری در دامپروری ۹۰
۳-۳-۱- تلقیح مصنوعی ۹۰
۳-۳-۲- انتقال جنین ۹۱
۳-۳-۳- تولید جنین‌های لقاح خارج رحمی ۹۱
۳-۳-۴- تعیین جنسیت ۹۱
۳-۳-۵- شبیه‌سازی ۹۲
۳-۳-۶- کنترل بیماریها ۹۳
۳-۴- کاربردهای زیست فناوری در گیاهپزشکی ۹۴
۳-۴-۱- شناسایی عوامل بیماری‌زای گیاهی ۹۴

فهرست

۳-۴-۲- حشره کشهای بیولوژیک ۹۴
۳-۴-۳- عوامل کنترل‌کننده بیماریهای گیاهی و علف‌های هرز ۹۵

واژه‌نامه ۹۷
منابع ۱۰۵

پیشگفتار



زیست فناوری را می‌توان کاربرد روش های علمی و فنی در تبدیل بعضی مواد به کمک عوامل بیولوژیک (میکروارگانیسم ها، یاخته‌های گیاهی و جانوری، آنزیم‌ها و...) برای تولید کالا و خدمات در کشاورزی، صنایع غذایی، دارویی، پزشکی و ... در نظر گرفت. گستردگی کاربرد زیست فناوری به حدی است که اقتصاد، بهداشت، درمان، محیط زیست، کشاورزی، صنعت، تغذیه و سایر جنبه‌های زندگی بشر را تحت تأثیر شگرف خود قرار داده است. به همین دلیل زیست فناوری یکی از محورهای اساسی توسعه در بسیاری از کشورها قلمداد شده و در تنظیم راهکارها و برنامه‌های ملی توجه جدی به آن شده تا جایی که بیش از ۱۰ درصد تولید ناخالص داخلی در بعضی از کشورها به زیست فناوری اختصاص دارد. این نشان دهنده اهمیت و جایگاه این علم در اقتصاد بوده و در آینده این نقش پررنگ‌تر خواهد شد.

در نظام جمهوری اسلامی ایران نیز بر اساس اسناد بالادستی، زیست¬فناوری به عنوان یکی از حوزه‌های اقتدار آفرین برای کشور لحاظ شده و توسعه آن مورد توجه قرار گرفته است. از آنجا که توسعه و رشد پایدار در هر زمینه‌ای بدون توجه به نیروی انسانی ممکن نیست، آموزش زیست‌فناوری یکی از حوزه‌های کلیدی و حیاتی در این زمینه بوده و تربیت ریشه‌ای و عمیق نیروی انسانی متخصص و متعهد مهم¬ترین موضوع در راستای نیل به اهداف کشور در این زمینه است.

از آنجا که پیاده‌سازی سازوکارهای آموزشی مستقل توسط نهادهای مختلف موجب کارایی پایین، دوباره-کاری و اتلاف منابع می‌شود، رشد جهشی در تربیت نیروی متخصص در این حوزه مستلزم اجرای نظامی یکپارچه با هدفی مشخص است که روابط بین نهادهای درگیر را به گونه‌ای تنظیم نماید که تحقق اهداف آن را تسهیل کند. ستاد توسعه زیست فناوری در کشور به عنوان نقطه کانونی تمامی فعالیت‌های زیست فناوری در کشور محسوب می‌شود و سیاست‌گذاری و برنامه‌ریزی کلان فعالیت‌ها را بر عهده دارد. گروه آموزش، منابع انسانی و ترویج این ستاد بدنبال ایجاد زمینه‌های جدیدی است تا بتواند حوزه‌های مختلف آموزش زیست فناوری را تحت تأثیر قرار داده تا در پی آن شاهد آموزشی قدرتمندتر و پویاتر در کشور باشیم. کتاب حاضر که به معرفی سه حوزه کلان زیست فناوری با رویکرد کاربردی پرداخته، به دنبال ساده‌سازی مفاهیم و تقویت ارتباط‌گیری با علاقه‌مندان این رشته است. تهیه کتاب‌هایی جهت معرفی علم زیست‌فناوری و کاربردهای آن به زبان ساده بخشی از اهداف آموزشی این نظام بوده و کتاب حاضر در این راستا تهیه شده است.

مقدمه

زیست فناوری بخشی از فناوری‌هاست که در آن از موجودات زنده و یا اجـزای آنها بهره گرفته مـی‌شود. این تعریف، گستره وسیعی از رشته‌های مختلف علوم و فنون را در بر گرفته چنانکه می‌تواند زمـینه فعالیت زیسـت فنـاوری را در بخـش‌های کشاورزی، پزشـکی، دام و آبزیان، فراورده‌های غـذایی و داروئی، صنـعت و محیط زیست فراهم نماید.
تاریخچه بسیار مختصر علم زیست فناوری به سه دوره قابل طبقه بندی می‌باشد که عبارت‌اند از:

دوره سنتی

در این دوره انسان‌ها از فرآیندهای بیـولوژیکی ماننـد تخمیر برای تولید محـصولاتی همـچون نان، الکل، محصولات لـبنی، سرکه و غیره استفاده می‌کردند. به طور مثال ۶ هزار سال پـیش از میلاد مسیح، سومری‌ها و بابلی‌ها برای تولید سرکه از این فرایندها استفاده می‌کردند و یا مصری‌ها برای تولید نان از مـخمر و فرایند تخمیر بهره می‌برده‌اند.

دوره میانی

در این دوره (اوایل قرن ۲۰) انسان‌ها با ایجاد شرایط مناسب اقدام به تخمیر و کشت میکروارگانیسم‌ها نمـودند. مـعادل انگلیـسی واژه زیسـت فناوری[۱]، برای اولیـن بار در سـال ۱۹۱۹ بوسیـله مهـندس مـجارسـتانی، کارل ارکـی[۲] مورد استفاده قرار گرفت. وی برای تولید فرآورده‌های کشاورزی از مواد خام، از موجـودات زنده استفاده مـی‌کرد. در این دوره مفاهیم علمی زیست فناوری از جمله اصول توارث، ساختمان DNA، آنزیم‌های مورد استفاده در زیست فناوری و... شناخته شدند. دستاوردهای این دوره زمینه‌ی هرچه کاربردی‌تر کردن این حوزه از علم فراهم نمود.

دوره مدرن

در این دوره علم ژنتیک برای ایجاد تغییر در زندگی جوامع بـشری پا به عرصه ظـهور نهاد. در سـال ۱۹۷۰ با کشـف آنزیم‌های محدودکننده[۳] توسط هامیلتن اسمیت[۴]، الحاق ژن‌های جدید به باکتری‌ها مورد توجه قرار گرفت. شروع زیست فناوری مدرن در سال ۱۹۷۶ و با انتقال ژن از یک میکروارگانیسم به میکروارگانیسم دیگر همراه بود. مـیکروارگانیـسم حاضر با کسب تغییرات و خصوصیات جدید قادر به تولید محصول مورد نظر در مقادیر زیاد و با کارآیی بالاتر شد. کشف روش‌هایی جدید برای مبارزه با بیماری‌های نادر و ناتوان کننده،

۱. Biotechnology
۲ Karl Erkey
۳. Restriction enzymes
۴ Hamilton Smith

کاهش تأثیرات مضر بر محیط زیست، بدست آوردن انرژی‌های سالم و پاک و بهبود فرآیندهای تولید ازجمله دستاوردهای زیست فناوری مدرن می‌باشند.

دوره کنونی

با وجود پیشرفت‌های گسترده در دوره مدرن، مخاطرات و هزینه‌های حاصل از این روش‌ها دانشمندان را به سوی ابداع روش‌هایی با افزایش دقت و کاهش مخاطرات سوق داد. فناوری ویرایش ژنوم را شاید بتوان مهم‌ترین دستاورد زیست‌فناوری طی چند سال اخیر دانست که به دانشمندان امکان می‌دهد بسیار دقیق-تر و بهتر از روش‌های قبل، هر ژنی را در هر موجود زنده‌ای ویرایش و تغییرات لازم را در آن اعمال کنند.

در سال ۲۰۰۷ بود که مشخص شد توالی‌های تکرار شونده در ژنوم باکتری در واقع سیستم ایمنی اکتسابی آن به خصوص در مقابل ویروس‌ها می‌باشد. همان گونه که سیستم ایمنی موجودات پیچیده‌تر مثل انسان با قرار گرفتن در معرض میکروب‌ها نحوه مقابله با آنها را یاد می‌گیرد، باکتری‌ها نیز با استفاده از بخش‌های خاصی از توالی ژنوم خود، ژنوم ویروس را تخریب و از خود محافظت می‌کنند. این بخش از توالی باکتری، تناوب‌هایِ کوتاهِ پالیندرومِ فاصله‌دارِ منظمِ خوشه‌ای[۱] نامیده شده که مخفف آن به انگلیسی کریسپر بوده و به روش‌هایی که از این توالی‌ها استفاده میکنند نیز کریسپر گفته می‌شود. اعلام این پدیده در سال ۲۰۱۲ و آزمایشات اولیه استفاده از تکنیک کریسپر به عنوان یک فناوری جهت ویرایش ژنوم طی سال‌های ۲۰۱۳ تا ۲۰۱۵ انجام شده است.

یکی از مهم ترین مزایای استفاده از این سیستم در مقایسه با سیستم انتقال ژن، این است که انجام آن بدون دخالت در مکانیسم های داخل سلولی، منجر به غیر فعال کردن یک ژن یا خارج نمودن کامل ژن از سلول می‌گردد. بنابراین از این روش می توان در درمان بیماری هایی همچون انواع سرطان و تحقیقات مربوط به شناسایی ژن های معیوب در بیماری های ژنتیکی و همچنین تولید گیاهانی با ویژگی‌های خاص استفاده کرد.

زیست فناوری از حیث کاربرد

زیست فناوری از لحاظ کاربرد و حیطه مورد بررسی گاه به ۴ گروه مجزا طبقه‌بندی می‌شود که عبارت‌اند از:

---

۱. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)

زیست فناوری سبز[۱]: زیست فناوری کشاورزی که در زمینه فرآیندها و تولید محصولات کشاورزی فعالیت می کند.

زیست فناوری قرمز[۲]: زیست فناوری پزشکی که در حوزه تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری ها همچون آنزیم، آنتی بادی، واکسن و ... فعالیـت دارد.

زیست فناوری سفید[۳]: زیست فناوری صنعتی که به کاربرد زیست فناوری در فرآیندهای صنعتی و سایر فرآیندهای تولیدی می‌پردازد

.

زیست فناوری آبی[۴]: زیست فناوری دریایی که کاربرد زیست فناوری در استفاده از دریا و موجودات آبزی را مورد هدف قرار داده است.

البته زیست فناوری دارای حوزه‌ها و زیر حوزه‌های بسیاری است و اینگونه دسته‌بندی‌ها عمدتاً برای ساده‌سازی مفاهیم و طبقه‌بندی آنهاست.

در این کتاب سعی شده است تا برخی از کاربردهای زیست فناوری معرفی شود.

۱ . Green Biotechnology
۲ . Red Biotechnology
۳ . White Biotechnology
۴ . Blue Biotechnology

بخش اول:

کاربردهای زیست فناوری در پزشکی

۱-۱- زیست فناوری پزشکی[۱]

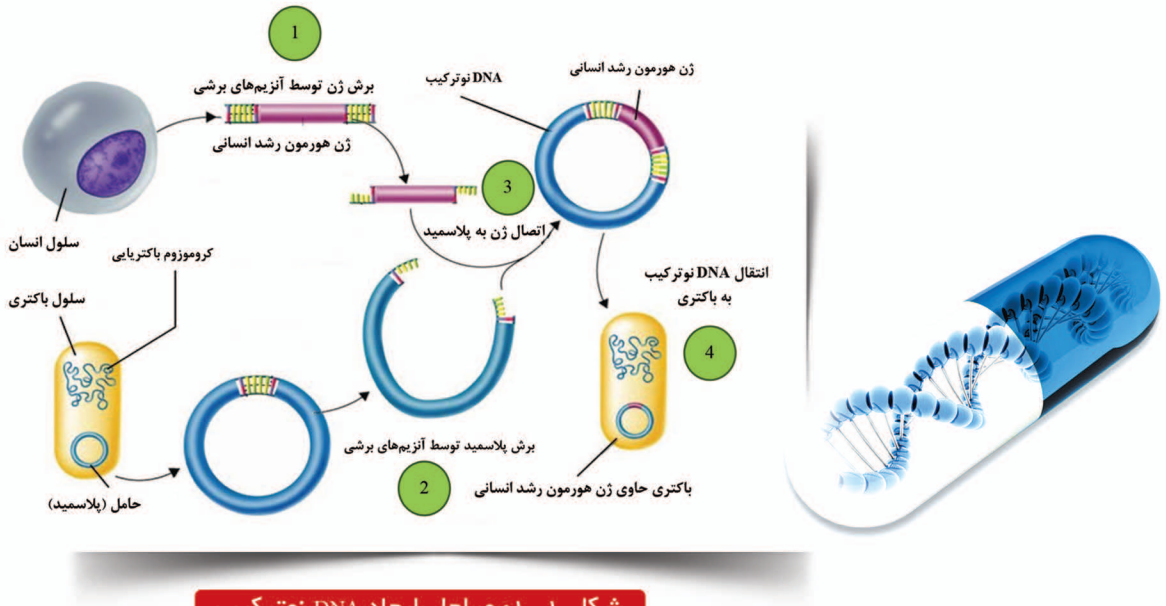
هدف اصلی زیست فناوری پزشکی، افزایش سلامت انسان‌ها از طریق تحقیق و توسعه و با به کار بردن موجودات زنده و یا فرآورده‌های آنها می‌باشد. ابداع تست‌های دقیق‌تر برای تشخیص بیماری‌ها، استفاده ازعلوم ژنومیکس و پروتئومیکس برای مهار بیماری‌ها، ژن‌درمانی، بیوانفورماتیک، تولید آنتی‌بادی بر علیه اهداف مولکولی مشخص درون سلول، تولید انواع واکسن‌های نوترکیب و DNA واکسن‌ها و ... از بخش‌های عمده زیست فناوری پزشکی به شمار می‌آیند. اهمیت و کاربرد این علوم در زیست‌فناوری پزشکی در سه حوزه پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌ها قابل بررسی می‌باشد.

از مهم‌ترین و ابتدایی‌ترین یافته‌ها در زمینه زیست فناوری پزشکی کشف آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین از کپک پنی سیلیوم در سال ۱۹۲۸ بوسیله الکساندر فلمینگ است که در سال ۱۹۴۰ به تولید انبوه رسید اما عصر طلایی زیست‌فناوری پزشکی از سال ۱۹۷۰ و با توسعه تکنیک DNA نوترکیب آغاز شد. در این فرآیند قطعه‌ای از DNA مورد نظر که معمولا یک ژن خاص می‌باشد به کمک آنزیم‌های محدودکننده برش یافته و از طریق حامل مناسب (به طور مثال پلاسمید باکتریایی) به یک میزبان (میکروارگانیسمی مانند باکتری Ecoli) منتقل میشود. بعد از این انتقال میزبانِ حاوی ژن جدید قادر به تکثیر ژن و همچنین تولید محصول پروتئینی ژن مربوطه میشود. پاول برگ[۲] در سال ۱۹۷۲ برای اولین بار ژنوم ویروس SV۴۰ را به بخشی از DNA باکتری متصل و اولین DNA نوترکیب را ایجاد نمود.

اولین کاربرد فناوری DNA نوترکیب، تولید انسولین نوترکیب در سال ۱۹۷۸ بود. هورمون رشد انسانی و فعال‌کننده پلاسمینوژن بافتی (TPA) نیز مثال‌های دیگری در این زمینه می‌باشند. کمپانی Gentech اولین کمپانی تولیدکننده محصولات بر مبنای DNA نوترکیب در سال ۱۹۷۶ تأسیس شد. با پیشرفت این فناوری، در مورد اساس مولکولی بیماری‌ها نیز اطلاعات بیشتری بدست آمد و علم پزشکی مولکولی پایه‌گذاری گردید.

۱ . Medical Biotechnology
۲ . Paul Berg

تولید بیوفارماسوتیکال[1]ها که نام دیگر آنها محصولات زیست پزشکی[2] می‌باشد از دیگر اتفاقات حوزه زیست فناوری پزشکی محسوب می شود. بیوفارماسوتیکال ها به محصولات پزشکی گفته می شود که از منابع زیستی یا استخراج گردیده و یا به صورت سنتزی و نیمه سنتزی ساخته می شوند. اسیدهای نوکلئیک (DNA واکسن، الیگو نوکلئوتیدهای آنتی‌سنس)، پروتئین‌ها (آنتی‌بادی‌های منوکلونال)، برخی سلول‌ها (واکسن‌های باکتریایی)، بعضی از ویروس‌ها (باکتریوفاژها و حامل‌ها) و ابزارهای تشخیصی در محیط In vivo از مهم‌ترین بیوفارماسوتیکال‌ها هستند.



شکل ۱-۱: مراحل ایجاد DNA نوترکیب

۱. جداسازی ژن مورد نظر با استفاده از آنزیم‌های برشی، ۲. انتخاب حامل مناسب و برش آن توسط آنزیم‌های برشی، ۳. وارد کردن ژن مورد نظر به حامل و ایجاد DNA نوترکیب، ۴. وارد کردن حامل دارای DNA نوترکیب به میزبان مناسب.

۱. Biopharmaceutical
۲. Biomedicine

کاربردهای زیست فناوری در پزشکی را می‌توان در سه حوزه پیشگیری، تشخیص و درمان دسته‌بندی نمود که در ادامه هر حوزه به طور جداگانه مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۱-۲- کاربردهای زیست فناوری پزشکی در حوزه پیشگیری

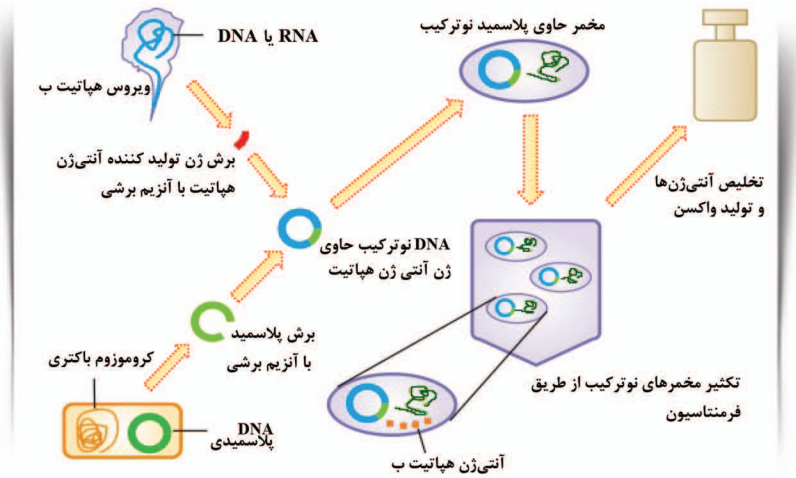
پیشگیری همیشه و در همه زمان‌ها، بهتر، آسان‌تر و کم‌هزینه‌تر از درمان بوده و بخش مهمی از تحقیقات حوزه پزشکی از جمله زیست‌فناوری پزشکی به مسئله پیشگیری از بیماری‌ها اختصاص دارد. روش قدیمی تولید واکسن که مبنای آن استفاده از پاتوژن‌ها (تضعیف شده یا کشته شده) یا قطعاتی از پاتوژن‌ها می‌باشد، از مهم‌ترین راه‌های پیشگیری محسوب می‌شود. بیماری‌هایی مانند اوریون، آبله، کزاز و فلج اطفال به کمک چنین واکسن‌هایی کنترل یا ریشه‌کن شده‌اند. اولین بار ادوارد جنر در سال ۱۷۹۸ از ویروس آبله گاوی[۱] برای ایمن‌سازی بر علیه آبله انسانی استفاده کرد. با توسعه زیست‌فناوری پزشکی، واکسن‌های حاصل از زیست‌فناوری مانند واکسن‌های نوترکیب و DNA واکسن‌ها نیز ظهور پیدا کردند.

۱-۲-۱- واکسن نوترکیب[۲]

در تولید واکسن‌های نوترکیب به جای پاتوژن ضعیف یا کشته شده، که در واکسن‌های معمولی استفاده می‌شود، از ترکیبات ایمنوژن (تحریک کننده سیستم ایمنی) استفاده می‌شود در نتیجه عوارض جانبی که ممکن است بعد از تزریق واکسن‌های معمولی ایجاد شود حذف می‌گردد. مراحل ساخت واکسن‌های نوترکیب شامل یافتن ترکیبات ایمنوژن موجود در میکروارگانیسم (این ترکیبات معمولا شامل پروتئین‌ها یا گلیکوپروتئین‌های غشایی هستند)، شناسایی توالی ژن مربوط به ترکیب ایمنوژن، جداسازی و تکثیر ژن شناسایی شده و انتقال آن به پلاسمید مناسب، انتقال پلاسمید نوترکیب (حاوی ژن سازنده ترکیب ایمنوژن) به سلول میزبان و فراهم نمودن شرایط مساعد بیان پروتئین مورد نظر (پروتئین‌های ایمنوژن) در مقادیر انبوه می‌باشد.

اولین واکسن نوترکیب، واکسن هپاتیت ب بود که با انتقال ژن تولید کننده آنتی‌ژن سطحی ویروس هپاتیت ب، به پلاسمید باکتریایی و بیان آن ژن در سلول‌های مخمر ایجاد گردید. جهت تولید واکسن قابل عرضه به بازار، مخمرهای حاوی DNA نوترکیب در تانک‌های مخصوص به نام فرمانتور تکثیر شده و سپس آنتی‌ژن بیان شده در مخمرها استخراج و در فرمولاسیون واکسن قرار می‌گیرد (شکل ۱-۲).

۱. Cow pox
۲. Recombinant Vaccine



شکل ۱ – ۲:مراحل تولید واکسن نوترکیب هپاتیت ب

شکل ۱ – ۳: شکل ۱ ۳: تصویری از یک فرمانتور

فرمانتـــور دستگـــاهی است متشکل از تجهیزات و قطعات مختلف که شرایط بهینه و کنـــترل شده را برای رشـــد میکروارگانیسم‌هایی همـــچون قـــارچ، باکتری و مخمر را در حالت استریل فراهم می‌کند. رشد میکروارگانیسم‌ها در فرمانتور به هدف تولیـــد فرآورده‌های زیستی همچون آنـــزیم‌ها، اســـیدهای آمینه، آنتی بیوتیک‌ها و یا پروتئین‌های نوترکـــیب می‌باشد.

ازآنجا که تولید بیوفارماسوتیکال‌ها همچون واکسن‌ها، نیاز به کشت‌های گسترده سلول‌های میکروبی یا انسانی دارد، روشی پرهزینه محسوب می‌شود. در نتیجه محققین همیشه به دنبال روش‌های جایگزین با هزینه‌های کمتر بوده‌اند.

چگونه میتوان جایگزینی برای مرحله مشکل و هزینهبر فرمنتاسیون، که طی آن کشت انبوه سلولی صورت می‌گیرد، پیدا نمود؟

یکی از راه حل های محققین در این زمینه استفاده از موجودات عالی به عنوان کارخانه ها یا فرمانتورهای زنده بوده است. در همین راستا تولید واکسن‌های نوترکیب خوراکی[۱] در بافت‌ها و اندام‌های مختلف گیاهی همچون برگ، میوه و یا دانه طی سال‌های اخیر مورد توجه بسیار قرار گرفته است. بدین منظور DNA نوترکیب که حاوی ژن مورد نظر می‌باشد به گیاه انتقال داده شده و به گیاه حاصل تراریخته گفته می‌شود.

به طور کلی به کشت گیاهان جهت تولید پروتئین‌های نوترکیب، آنزیم‌ها یا متابولیت‌های ثانویه با کاربردهای صنعتی و درمانی با استفاده از فناوری DNA نوترکیب، کشاورزی مولکولی[۲] گفته می‌شود. در حالیکه برای تولید پروتئین‌های دارویی از اصطلاح فارمینگ[۳] یا بیوفارمینگ[۴] استفاده می‌شود. تولید واکسن‌های خوراکی در گیاهانی مانند گوجه‌فرنگی، توت‌فرنگی، موز و ذرت بر علیه GI عوارض ایجاد شده بوسیله باکتری Ecoli، ویبریو کلرا، رترو ویروس‌ها، هپاتیت ب، دیابت نوع I و بیماری‌های خود ایمن، مثال‌هایی در این زمینه هستند. علیرغم غیر تهاجمی، سالم و آسان بودن این روش، استفاده از واکسن‌های خوراکی با محدودیت‌هایی همراه است و یکی از عمده‌ترین محدودیت‌ها، مشخص نبودن دوز مورد نیاز برای تحریک مؤثر سیستم ایمنی می‌باشد.

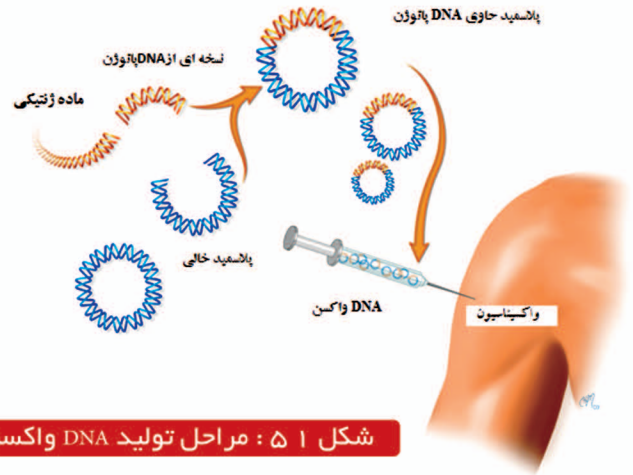
به غیر از گیاهان، دیگر موجودات زنده نیز می‌توانند با استفاده از فناوری DNA نوترکیب به کارخانه تولید کننده یک بیوفارماسوتیکال تبدیل شوند. به عنوان نمونه می‌توان به تولید چنین ترکیباتی در شیر حیوانات مزرعه‌ای و یا تخم‌مرغ اشاره کرد. در این حالت ژن بیگانه هدف به سلول های حیوانی همچون غدد شیری انتقال داده میشود. در نتیجه حیوان حاصل که به عنوان یک حیوان تراریخته شناخته می‌شود قادر به تولید ترکیب مورد نظر در شیر خود می‌گردد. تولید TPA در بز، فاکتور ۸ در گوسفند، هموگلوبین در خوک و لاکتوفرین در گاو از جمله مثالهایی هستند که با استفاده از این روش تولید شده‌اند.

۱ . Edibles Vaccine
۲ . Molecular farming
۳ . Pha rming
۴ . Biopharming

شکل ۱ – ۴: شنگول و منگول اولین بزغاله های تراریخت خاورمیانه حاوی ژن فاکتور انعقادی خون که در سال ۱۳۸۸ در ایران متولد شدند.

۱-۲-۲- واکسن DNA

استراتژی دیگر در تولید نسل جدید واکسن‌ها، تزریق مستقیم DNA کد کننده آنتی‌ژن پروتئینی می‌باشد. DNA پلاسمیدی حاوی ژن مورد نظر به عضله تزریق و ایمنی هومورال و سلولی را برمی‌انگیزد. این پلاسمید می‌تواند در DNA کروموزومی الحاق گردیده یا به صورت اپی‌زومی داخل سلول باقی بماند. ارائه طولانی مدت آنتی‌ژن به سیستم ایمنی با تزریق DNA واکسن، منجر به تولید سلول‌های ایمنی خاطره می‌گردد.



شکل ۱ ۵ : مراحل تولید DNA واکسن

۱-۳- کاربردهای زیست فناوری پزشکی در حوزه تشخیص[۱]

کاربردهای زیست‌فناوری پزشکی در حوزه تشخیص، باعث افزایش حساسیت و دقت در ردیابی و تشخیص بسیاری از بیماری‌ها شده است. استفاده از کیت‌های تشخیصی که محصول زیست‌فناوری می‌باشند، کمک شایانی در تشخیص بیماری، پیش‌بینی درصد بهبود بیماری و همچنین پیش‌بینی تأثیر درمان روی بیماری می‌نماید.

اکثر آزمایش‌های تشخیصی تجاری موجود در حوزه زیست فناوری پزشکی، یا بر اساس بررسی اسیدهای نوکلئیک فرد مراجعه کننده بوده و یا آزمایش‌هایی بر مبنای استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال می‌باشند. علاوه بر این موارد، تست‌هایی بر پایه ترکیب پروتئومیکس و نانوتکنولوژی[۲] نیز در تشخیص بیماری کاربرد دارند

شکل ۱-۶ : نمونه ای کیت تشخیصی، تولید کیت های تشخیصی با استفاده از فناوری های زیستی از جمله حوزه هایی است که جمهوری اسلامی ایران در آن گام برداشته و هم اکنون تعدادی از شرکت های دانش بنیان بخش خصوصی دارای تکنولوژی تولید انواع مختلفی از این کیت ها می باشند.

۱-۳-۱- آزمایش های تشخیصی بر پایه تکثیر اسیدهای نوکلئیک

از مهم ترین مسائل در درمان موفق یک بیماری، تشخیص صحیح و به موقع آن می باشد. طی سال های اخیر تاثیر ژنوتیپ افراد بر بروز بسیاری از بیماری ها ثابت شده است. به عبارتی وجود برخی از ژن ها و یا آلل های خاصی از آنها و یا رخ دادن جهش در برخی از ژن ها می تواند منجر به بروز بیماری شود. بر همین اساس یکی از راه‌های تشخیص یک بیماری بررسی وجود و یا عدم وجود آلل خاصی از یک ژن می‌باشد. برای مثال سرطان کلورکتال فامیلی (FAP) به علت جهش در ژن مهارکننده تومور (APC) ایجاد می‌شود.

۱. Diagnosis
۲. Nanodiagnostics

وجود آلل خاص یک ژن در یک فرد و یا رخ دادن جهش در یک ژن چگونه بررسی می شود؟

از طرف دیگر عامل بسیاری از بیماری ها نیز عوامل میکروبی مانند باکتری ها و ویروس ها بوده و یکی از راه های تشخیص چنین بیماری هایی، تائید وجود عامل بیماری‌زا در بدن فرد می‌باشد. البته تائید وجود باکتری یا ویروس در بدن یک فرد به تنهایی کافی نبوده و تجویز داروی مناسب مستلزم شناسایی دقیق نوع باکتری یا ویروس می‌باشد. یکی از دقیق‌ترین راه‌های شناسایی عوامل میکروبی بررسی برخی از ژن‌های اختصاصی آنها می‌باشد به عبارتی وجود ژنی اختصاصی یک عامل میکروبی در نمونه DNA استخراج شده از خون یک فرد، تائید کننده وجود آن عامل میکروبی در خون خواهد بود.

وجود ژن اختصاصی یک عامل میکروبی در یک فرد چگونه بررسی می شود؟

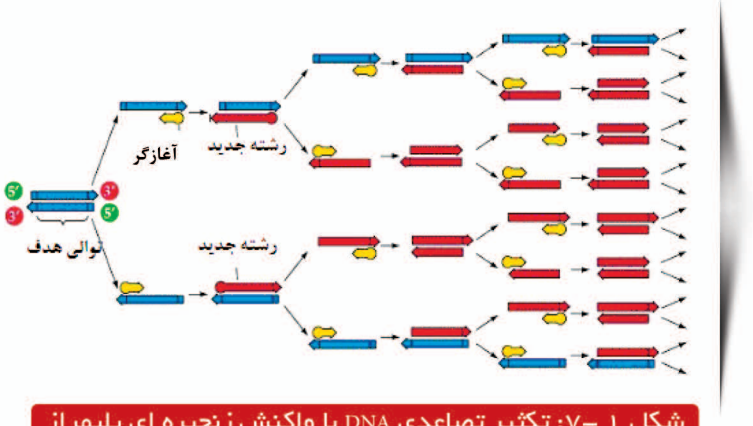
اصول همانندسازی ماده ژنتیکی برای اولین بار در سال ۱۹۵۳ توسط واتسون و کریک معرفی شد و ۲۲ سال بعد با ابداع تکنیک ساودرن بلات[۱] مفهوم کاربردی پیدا کرد. در این روش قطعات مختلف DNA الکتروفورز شده به یک فیلتر غشایی منتقل می گردند. سپس با اضافه کردن پروب هایی با توالی مشخص به فیلتر حاوی قطعات DNA، ایجاد هیبریداسیون بین DNA و پروب، DNA ناشناخته، شناسایی می‌گردد. با این حال این روش با محدودیت هایی همراه می باشد که از آن جمله می توان به زمان بر بودن و عدم توانایی انجام آن در مقادیر زیاد اشاره کرد.

اختراع تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یا PCR[۲] بوسیله کری مولیس[۳] در سال ۱۹۸۳ انقلابی در تشخیص مولکولی به وجود آورد.PCR مجموعه‌ای از واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز است که در آن یک یا تعداد محدودی از کپی‌های DNA از طریق همانندسازی بوسیله آنزیم‌های اختصاصی (Taq DNA Polymerase) به صورت تصاعدی تکثیر می‌شوند. در این روش، حتی مقادیر بسیار کم DNA اختصاصی نیز قابل تکثیر و آشکارسازی می باشند.

اصول PCR بدین صورت می باشد که ابتدا دو رشته DNA بوسیله حرارت از هم جدا شده و یا به عبارت دیگر واسرشت می‌شوند. بعد از واسرشت شدن دو رشته، روند تکثیر DNA بوسیله جفت شدن آغازگرهای

۱ Southern blot
۲ Polymerase Chain Reaction
۳ . Karry Mullis

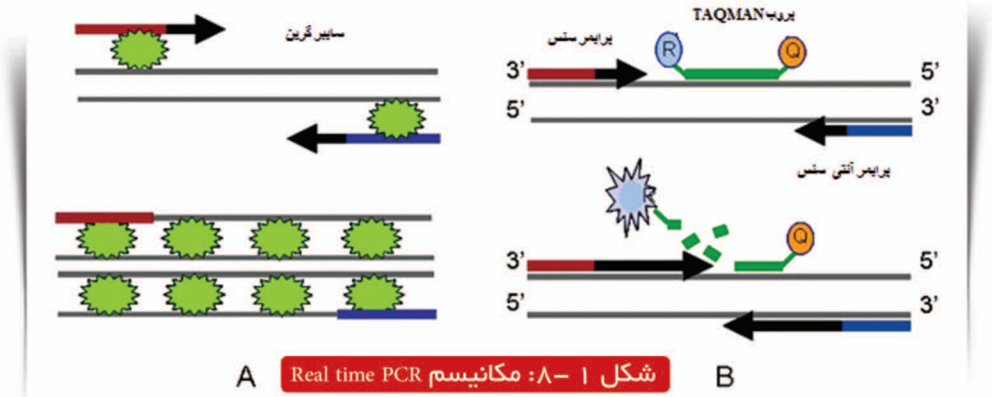
الیگونوکلئوتیدی تک‌رشته‌ای در محلی اختصاصی از رشته DNA آغاز می‌شود. بدین صورت که با پایین آوردن دما، آغازگرها به توالی اختصاصی در DNA تک رشته‌ای واسرشت شده متصل گردیده و با افزایش مجدد حرارت به دمای مطلوب جهت فعالیت آنزیم DNA Taqپلی‌مراز، ساخت رشته جدید از روی DNA واسرشت شده صورت می‌گیرد. در این مرحله مجدداً مولکول‌های DNA دو رشته‌ای ایجاد می‌شوند. دور بعدی ساخت را می‌توان با گرم کردن و واسرشت نمودن مجدد DNAهای دو رشته‌ای حاصل از مرحله قبل، کاهش دما و اتصال آغازگر و سپس ساخت رشته‌های مکمل بوسیله آنزیم DNA پلی‌مراز را تکرار کرد. هر تکرار از ساخت DNA شامل یک چرخه تکثیر است و هر رشته DNA تازه ساخته شده، الگویی برای چرخه‌های بعدی تکثیر می‌باشد. هر آزمایش PCR معمولا دارای ۲۵ تا ۳۵ چرخه بوده که طی آن یک رشته الگوی اولیه به طور تصاعدی تبدیل به میلیون‌ها قطعه می‌شود (شکل ۱-۷).



شکل ۱ -۷: تکثیر تصاعدی DNA با واکنش زنجیره ای پلیمراز

یکی دیگر از روش‌های پرکاربرد در تشخیص‌های بالینی و تحقیقات بر مبنای تکثیر اسیدهای نوکلئیک، روش Real Time PCR می‌باشد. در این روش علاوه بر جستجو وشناسایی یک توالی خاص در DNA هدف، می‌توان مقدار DNA مورد نظر را نیز در نمونه‌های مورد مطالعه اندازه‌گیری، و به صورت کمی بیان نمود. اصول کلی PCR و Real time PCRبا هم مشابه اند با این تفاوت که در Real time PCR پس از تکثیر DNA در هر چرخه، مقدار دقیق DNA نیز اندازه‌گیری می‌شود.

مبنای کار در روش Real time PCR استفاده از پروب‌ها و نشانگرهایی است که از خود نور فلورسانس منتشر می‌کنند. نحوه ساطع شدن نور در این پروب‌ها دارای دو نوع سازوکار می‌باشد. در گروه اول که TAQMAN نامیده میشود مولکول ساطع کننده نور از ابتدا به DNAهای تک رشته‌ای متصل و خاموش می‌باشد. ساخت شدن رشته مکمل هر مولکول DNA باعث جدا شدن پروب از DNA و ساطع شدن نور می‌شود. در نتیجه با افزایش ساخت DNA میزان بازتاب نور نیز افزایش می‌یابد. در گروه دوم، پروب که مولکول سایبرگرین می‌باشد تنها قادر است به DNA دورشته‌ای متصل شود و برخلاف پروب قبلی بعد از اتصال است که از خود نور ساطع می‌کند اما در این حالت نیز به ازاء ساخته شدن هر رشته DNA میزان انتشار نور افزایش می‌یابد. در نتیجه در طی واکنش PCR، به موازات تکثیر و افزایش غلظت DNA، شدت فلورسانس نیز در محلول افزایش می‌یابد با اندازه‌گیری میزان نور فلورسانس در انتهای هر چرخه، نهایتاً یک منحنی بدست می‌آید که با استفاده از نمودارهای استاندارد و فرمول‌های مربوطه، غلظت DNA هدف در نمونه مورد مطالعه، محاسبه می‌شود.

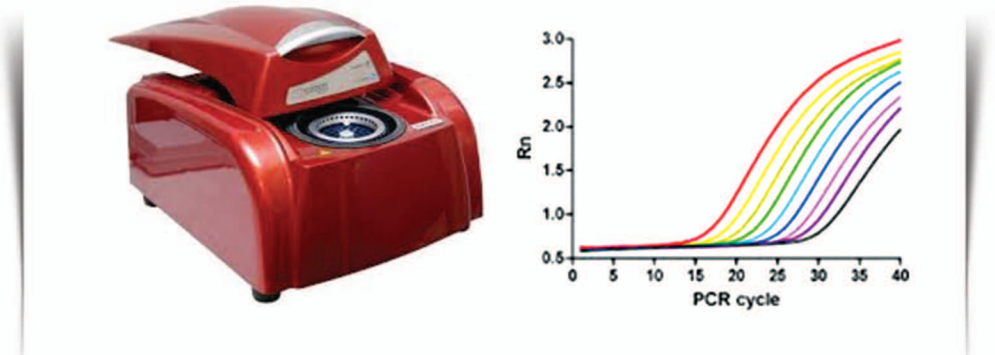


شکل ۱ -۸: مکانیسم Real time PCR

A) پروتئین فلورسنت سایبر به DNA دو رشته‌ی متصل شده و طی سنتز رشته‌های DNA از خود سیگنال سبز رنگ فلورسنت ساطع می‌کند.

B) در این روش غیر از آغازگر اصلی، پروب Taqman نیز با توالی مکمل خود به DNA تک رشته‌ای متصل است. این پروب در دو طرف خود به دو ترکیب فلورسنتی متصل است. با ساخته شدن DNA، آنزیم DNA پلی مراز پروب را تجزیه و از رشته جدا کرده در نتیجه سیگنال فلورسنت آن آشکار می‌شود.

این پروتئین، کنترل واکنش‌های التهابی و آسیب‌های بافتی ایجاد شده بوسیله عفونت‌های باکتریایی و ویروسی می‌باشد.



شکل ۱ -۹: نمونه ای از دستگاه Real Time PCR و منحنی¬های مربوط به تکثیر DNA مورد نظر
(هر نمودار رنگی مربوط به یک نمونه مجزا می‌باشد)

از جمله تست‌های تشخیصی مبتنی بر سنجش اسید های نوکلئیک، تشخیص بیماری‌های ویروسی همچون ایدز می‌باشد. بررسی مقدار DNA ویروسی در نمونه خون بیمار، بررسی حضور ویروس در نوزادان متولد شده از مادران HIV مثبت، غربال‌گری خون در بانک‌های خون برای شناسایی خون‌های سالم از خون‌های آلوده به ویژه در حالتی که بیماری دارای دوره کمون می‌باشد (دوره‌ای که ویروس در بدن وجود دارد ولی قابل ردیابی نیست) و در نهایت ارزیابی میزان موفقیت داروهای ضد رترو ویروسی با محاسبه میزان کاهش بار ویروس در بیماران تحت درمان، از جمله آزمایشات تشخیصی مبتنی بر سنجش اسید نوکلئیک هستند که با استفاده از تکنیک¬های PCR و یا Real Time PCR در بیماری ویروسی ایدز انجام می‌شوند. از این تست‌ها برای بررسی میزان ویروس موجود در بیماران مبتلا به هپاتیت B، هپاتیت C، سایتومگالو ویروس (CMV) و اپیشتاین بار (EBV) نیز استفاده می‌شود.

همانطور که قبلا نیز مطرح شد بررسی وجود یک ژن خاص و یا یک آلل خاص از یک ژن از دیگر مسیرهای تشخیصی برای برخی بیماری‌ها می‌باشد به طور مثال بررسی مقاومت به آنتی‌بیوتیک متی سیلین در باکتری استاف اورئوس (باکتری گرم مثبت عامل مرگ‌ومیر در بیمارستان) با بررسی یک ژن در این باکتری انجام می‌شود. حضور ژن MecA در باکتری باعث ایجاد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک متی سیلین در آن می‌گردد. با توجه به ویژگی روش PCR در توانایی تکثیر مقادیر حداقلیDNA، حضور ژن MecA در نمونه‌های باکتریایی گرفته شده از بیماران بررسی و مقاومت بدن این افراد به آنتی¬بیوتیک بررسی می‌شود. استفاده از تکنیک PCR زمان تشخیص را از ۹۶-۴۸ ساعت (با روش قدیمی کشت نمونه‌ها) به ۴-۲ ساعت کاهش داده است.

از دیگر کاربردهای تست‌های تشخیصی مبتنی بر اسیدهای نوکلئیک، تشخیص انواع سرطان‌ها می‌باشد؛ به عبارت دیگر، غربال‌گری ژنتیکی بوسیله تکنیک PCR ، امکان تشخیص زودهنگام و شروع درمان را فراهم می‌کند. برای مثال سرطان کلورکتال فامیلی (FAP) به علت جهش در ژن مهارکننده تومور (APC) ایجاد می‌شود. این ژن اتوزومال غالب بوده و باعث ایجاد سرطان در سنین زیر ۴۰ سالگی می¬گردد. تست‌های ژنتیکی احتمال شناسایی اعضای خانواده فرد بیمار که حامل ژن مورد نظر بوده و در نتیجه ریسک ابتلا در آنها زیاد است را بالا برده است. مثال دیگر در این زمینه شناسایی ژن‌های BRCA۱ و BRCA۲ به عنوان ژن‌های مستعد کننده سرطان سینه و تخمدان در افراد حامل این ژن‌ها است. شناسایی حاملین ژن باعث ارائه مشاوره به افراد در معرض خطر، تشخیص سریع‌تر و پیشگیری از ابتلا به سرطان می‌گردد. از دیگر کاربردهای این آزمایشات، در غربال‌گری‌های پیش از تولد می‌باشد. در بیشتر کشورهای توسعه‌یافته، غربال-گری ژنتیکی با هدف تعیین ناهنجاری‌های کروموزومی و ژنتیکی و دادن توانایی انتخاب به والدین برای پایان حاملگی صورت می‌گیرد. از جمله آزمایشات ژنتیکی رایج میتوان به آزمایش بیماری‌های سندروم داون، هموفیلی، سیستیک فیبروزیس و ... اشاره کرد. هرچند هنوز بحث‌های قانونی و اخلاقی زیادی در زمینه اجازه پایان حاملگی بر اساس نتایج چنین آزمایشاتی در کشورهای مختلف مطرح می‌باشد.

۱-۴- کاربردهای زیست فناوری پزشکی در حوزه درمان

تولید ترکیبات بیوفارماسوتیکال یا همان محصولات زیست پزشکی، از مهم‌ترین کاربردهای زیست‌فناوری در حوزه درمان می‌باشند. این محصولات یا از منابع زیستی استخراج می‌گردند و یا به صورت سنتزی و نیمه سنتزی و با استفاده از منابع زیستی ساخته می‌شوند. این ترکیبات که در درمان بیماری‌ها نقش مهمی بر عهده دارند به ۵ گروه زیر تقسیم‌بندی می‌شوند:

الف) واکسن‌های نوترکیب

این واکسن‌ها علاوه بر بحث پیشگیری که قبلاً هم ذکر شد، در درمان انواع بیماری‌ها و سرطان‌ها نیز مفید بوده و به عنوان داروی نوترکیب مطرح می‌باشند. تاکنون واکسن‌های درمانی مختلفی برای بیماری‌هایی همچون ایدز، لنفوما، سرطان سینه، سرطان کولون و سرطان پروستات روانه بازار گردیده‌اند.

شکل ۱ – ۱۰: انستیتو پاستور ایران به عنوان یکی از مراکز مطرح کشور در زمینه تولید داروهای نوترکیب محسوب می شود.

ب) سایتوکاین ها

یکی دیگر از ترکیبات بیوفارماسوتیکال، سایتوکاین‌ها هستند. این ترکیبات توانایی فعال کردن سلول‌های سیستم ایمنی مانند ماکروفاژها و منوسیت‌ها را داشته و در کنترل ویروسها و مهار تکثیر غیرعادی سلول‌ها نقش دارند. اینترلوکین ۱ از مهم‌ترین محصولات تولیدی عضو این خانواده می‌باشد که بوسیله ماکروفاژها تولید شده و نقش مهمی در افزایش دمای بدن بر عهده دارد. مهم‌ترین نقش این پروتئین، کنترل واکنش‌های التهابی و آسیب‌های بافتی ایجاد شده بوسیله عفونت‌های باکتریایی و ویروسی می‌باشد.

ج) آنزیم‌ها

آنزیم‌ها، مولکول‌های زیستی بزرگی هستند که مسئول انجام واکنش‌های شیمیایی متعدد برای بقا و حیات سلول بوده و از طرف دیگر کاتالیزورهایی برای سرعت بخشی به واکنش‌های متابولیک می‌باشند. درنتیجه اختلال در فعالیت یک آنزیم می‌تواند منجر به آسیب و بیماری گردد. از آنجا که این مولکول‌ها منشاء زیستی داشته و هر کدام ژن¬های اختصاصی تولید کننده خود را دارند، با شناسایی ژن‌های مربوطه و با استفاده از روش‌هایی همچون تکنولوژی DNA نوترکیب می‌توان آنها را تهیه نمود. به طور مثال Altepase (TPA فعال) سرین، پروتئازی است که نقش مهمی در حذف لخته‌های خونی داشته و با تکنیک‌های زیست فناوری ساخته شده است. Dornaseα نیز یک DNase که برای جداسازی رشته‌های DNA از هم به کار می‌رود و با استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیب تهیه شده است

د) هورمون‌ها

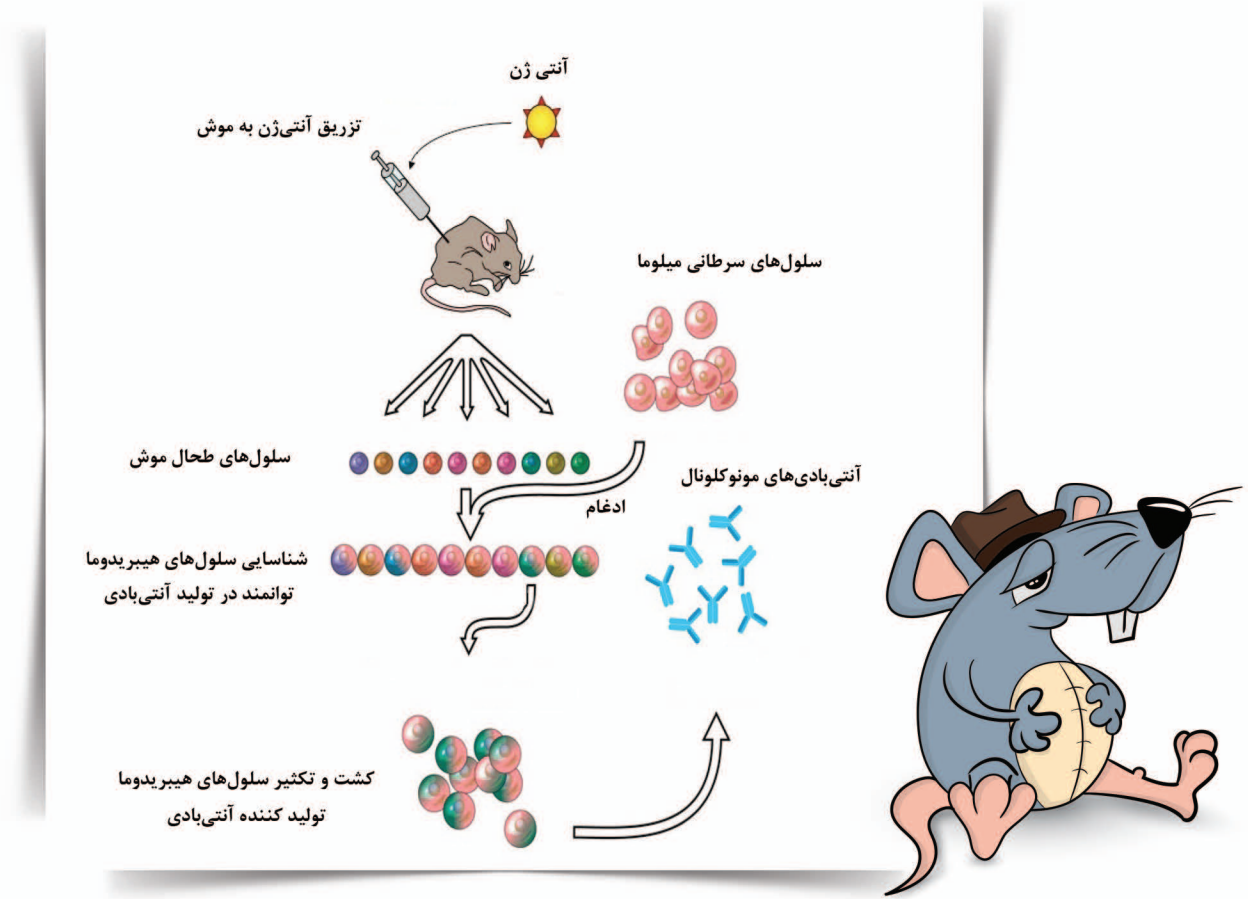
پروتئومیکس به معنی مطالعه ساختار و عملکرد کلیه پروتئین‌های یک سلول، بافت و یا فرد می‌باشد. به علت نقش کلیدی که پروتئین‌ها در مسیرهای متابولیکی و فیزیولوژیکی دارند به عنوان اجزای حیاتی سلول‌های موجودات زنده به شمار می‌روند.
هورمون‌ها ترکیباتی هستند که بوسیله سلول‌ها و غدد خاصی ترشح شده و باعث فعالیت سلول ها یا بافت های ویژه ای می گردند. هر گونه نقص در تولید هورمون ها باعث ایجاد مشکلات جدی در موجودات زنده می‌شود. از مهم‌ترین آنها می‌توان به هورمون های رشد، انسولین و گنادوتروپین ها اشاره کرد. هورمون‌ها گروه دیگری از مولکولی‌های زیستی هستند که امروزه در آزمایشگاه به کمک تکنیک‌های زیست فناوری و با تکیه بر تکنولوژی DNA نوترکیب ساخته شده و به عنوان دارو در اختیار بیماران قرار می‌گیرند.

ه) آنتی‌بادی‌های مونوکلونال

آنتی‌بادی‌ها پروتئین‌هایی هستند که بوسیله لنفوسیت‌های B و در پاسخ به مواجهه با عوامل بیگانه موسوم به آنتی‌ژن‌ها تولید می‌شوند. آنتی‌بادی‌ها به طرز شگفت‌آوری متنوع بوده و در شناسایی و خنثی کردن عوامل بیگانه و پاتوژن‌هایی همچون باکتری‌ها و ویروس‌ها به طور اختصاصی عمل می‌کنند. این مولکول‌های بزرگ شامل دو زنجیره سبک و سنگین بوده و بر اساس اختلافات ساختمانی نواحی C زنجیره خود به پنج کلاس ایمونوگلوبولین تقسیم می‌شوند این پنج کلاس (IgM، IgA، IgE، IgD و IgG) را ایزوتایپ نامنده و از از دیدگاه زیست‌فناوری IgG مهم‌ترین آنها محسوب می‌شود. آنتی‌بادی‌ها به دو گروه پلی‌کلونال و مونوکلونال تقسیم می‌شوند. آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال مخلوطی از ایمونوگلوبولین‌ها هستندکه اپی‌توپ‌های مختلفی از آنتی‌ژن را شناسایی می‌کنند، در حالیکه آنتی‌بادی‌های مونوکلونال تنها به یک اپی-توپ آنتی‌ژن متصل می‌شوند. توانایی آنتی‌بادی‌های مونوکلونال منشاء تحولات بزرگی در زمینه مطالعات و تشخیص‌های پزشکی شده است. برای اولین بار در سال ۱۹۷۵، کهلر[۱] و میلستین[۲] ، فرآیند تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال با تکنیک هیبریدوما را معرفی نمودند. در این روش، ابتدا آنتی‌ژن هدف به موش تزریق گردیده سپس لنفوسیت‌های B تولید کننده آنتی‌بادی از طحال موش استخراج می‌گردد. با الحاق لنفوسیت B تولید کننده آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن هدف با سلول سرطانی میلومای موشی، سلولی نامیرا تحت عنوان هیبریدوما ایجاد می‌شود که با تکثیر خود آنتی‌بادی‌هایی با منشا اولیه و یکسان خواهد ساخت. به این تکنیک هیبریدوما گفته شده و آنتی‌بادی‌های مونوکلونال تولیدی آن به صورت کاملا اختصاصی به مولکول‌های هدف متصل می شوند (شکل ۱-۱۱).
آنتی‌بادی‌های مونوکلونال کاربردهای بسیار گسترده‌ای در حوزه تشخیص‌های پزشکی دارند. شناخته شده‌ترین و شاید پرکاربردترین کیت تشخیصی مبتنی بر آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، کیت تست بارداری می‌باشد. در این کیت آنتی‌بادی‌های اختصاصی بر علیه هورمون HCGα[۳] ، با تشخیص این هورمون افراد باردار را شناسایی می‌کنند.

۱. Kohler
۲. Milstein
۳. Human Chorionic gonadotropin

در تائید تشخیص بیماری‌هایی همچون ایدز که تشخیص با تکنیک وسترن بلات انجام می¬گیرد نیز از آنتی‌بادی‌های مـــونوکلونال اختصاصی علیه پروتئین‌های ویروس استفاده می‌گردد..



شکل ۱ – ۱۱: مراحل تولید آنتی بادی مونوکلونال در موش

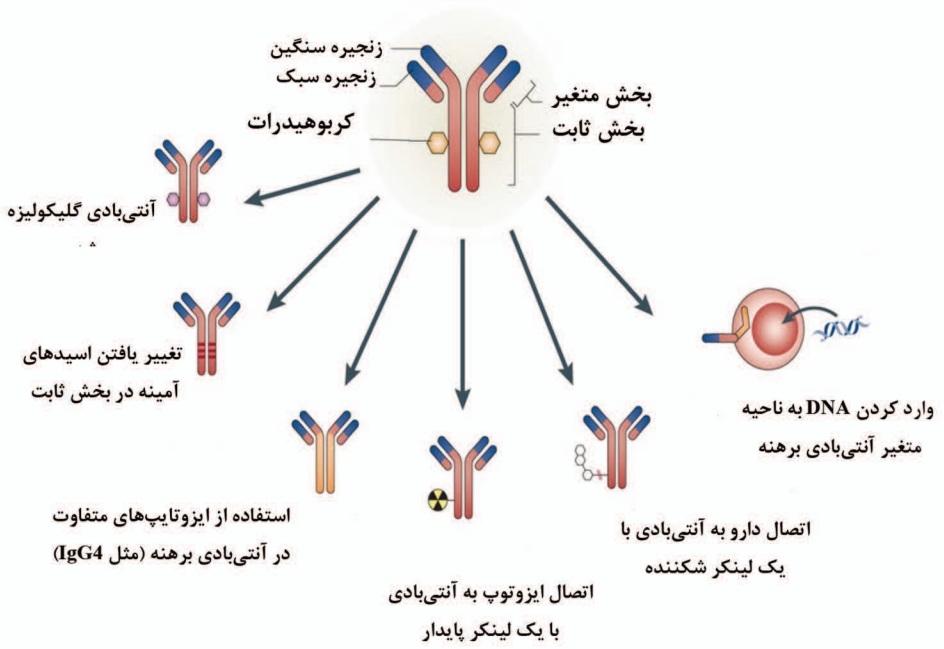
با وجود کاربردهای گسترده آنتی بادی های مونوکلونال، اما تاثیر آنها در درمان بیماری ها بسیار کمتر از میزان پیـــش بیـــنی شده بود، عدم وجود گیرنده برای برخی از آنتی بادی ها، عامل بیگانه شناخته شدن آنتـی بادی ها در بدن با توجه به اینکه منـــشاء آنها ژن های موش می باشد، اندازه بزرگ و نیمه عمر طولانی آنتی‌بادی‌ها از جمله عوامل کاهش دهنده موفقیت آنها شمرده می‌شود.

به نظر شما زیست‌فناوری قادر به برطرف کردن چنین مشکلاتی می‌باشد؟

فناوری DNA نوترکیب و مهندسی پروتئین امکان دست‌ورزی ساختار آنتی‌بادی‌ها را فراهم کرده است. به عبارت دیگر بسیاری از این مشـکلات را می‌توان با مهندسی آنتی‌بادی برای رسیدن به ویژگی‌های مطلوب حل نمود. امروزه با توسعه فناوری‌های نوترکیبی، آنتی‌بادی‌های مـــونوکلونال به قطعاتی کوچکتر با توانایی اتصال به آنتی‌ژن‌ها با میل ترکیبی و ظرفیت بیشتر تبدیل شده‌اند. همچنین این امکان نیز فراهم شده که طیف وسیعی از مولکول‌ها همچون آنزیم‌ها به منظور پیش‌دارو درمانی، ذرات رادیواکتیو و توکسین‌ها برای درمان سرطان، ویـروس‌ها و DNA برای ژن درمـــانی، دنباله‌های کاتیونی برای رها سازی DNA، لیپوزوم‌ها برای دارو رسانی هدفمند و حسگرها برای تشخـــیص با قطعیت بیشتر مولکول‌های هـــدف، با آنتی‌بادی‌ها ادغام می‌شـوند. چنین آنتی‌بادی‌هایی که آنتی‌بادی ترکیبی[۱] نامـــیده می‌شوند، در مـــقابل آنتی‌ادی‌های سـاده که آنتی‌بادی برهنه[۲]، کاربردهای آنتی‌بادی ها را بسیار گسترده‌تر کرده است به طور مثال نشان‌دار کردن آنتی‌بادی های مونوکـلونال با مواد رادیو ایزوتوپ و تـــزریق به بیمار به‌منظور آشکارسازی محل سلول‌های هدف، میزان دقت عمل در جراحی‌ها را بالا می‌برد.

از انواع آنتـــی‌بادی‌های مونوکلونال مورد استفاده در درمـــان ســـرطان می‌توان به Bevacizumab و Vitaxin (مهارکننده‌های رگ‌زایی) و Herceptin (مهارکننده HER۲ -Human Epidermal Growth Factor Receptor ۲) اشاره کرد.

۱ . Conjugated mAb
۲ . Nacked mAb



شکل ۱-۱۲ : انواعی از آنتی‌بادی‌های منوکلونال ترکیبی

۱-۵- برخی علوم موثر در پیشرفت زیست فناوری پزشکی

یکی از عوامل سرعت بخشی و پیشرفت علوم در بخش های مختلف به وجود آمـــدن حوزه های بین رشـــته ای می باشد. به کاربردن نتـایج علوم مختلف در حوزه پزشـــکی به ویژه زیست فناوری پزشکی از عوامل پیشرفت سریع این حوزه می باشد. در ادامه توضیحاتی در مورد بعضی از علوم موثر بر زیست فناوری پزشکی آورده می شود.

۱-۵-۱- ژنومیکس[۱]

ژنومیکس یکی از زیر شاخه‌های علم ژنتیک مولکولی است که در زیست فناوری پزشکی نیز کاربرد دارد. این علم به نقشه برداری، تعیین توالی و آنالیز ژنوم موجودات مختلف می‌پردازد. ژنومیکس برای اولین بار در سال ۱۹۸۶ بوسیله توماس رادریک[۲] معرفی و همـوفیلوس آنفـولانزا اولیـن میکروارگانیسمی بود که ژنوم آن تعیین توالی گردید. از پروژه ژنوم انسانی میتوان به عنوان بزرگ‌ترین و ارزشـمندترین پروژه در زمیـنه عـلوم زیستی و نقطه عطف ظهور و درخشش ژنومیکس نام برد. پروژه ژنوم انسانی[۳] که به تعیین توالی نواحی یوکروماتین ژنوم انسان پرداختـه، در سـال ۱۹۹۶ آغاز شد و در سال ۲۰۰۱ به نقطه اوج خود رسید. نسخه اولیه این پروژه در سال ۲۰۰۳ تکمیل و امروزه تقریباً ۹۹٫۹۹٪ ژن‌های انـسانی با این روش تعیین توالی شده و جایگاه و توالی دقیق آنها در ژنوم انسانی مشخص شده‌اند.

با در دست داشتن اطلاعات ژنوم انسان می‌توان ظهور علائم کلینیکی بیماری در فرد (فنوتایپ) را از روی محتوای ژنتیکی فرد (ژنوتایپ) تا حـدود زیادی پیش‌بینی کرد. همچنین شناسایی تمامی نواقص ژنتیکی در انسان و تعیین منشأ و کنترل بیماری‌های فیـزیکی و روانی با ایـن روش قابل انجام است. امروزه ژن‌های جدید مؤثر در بیـماری‌های فیزیولوژیکی (بیماری‌های قلبی و عروقی و ...) و روانی (شـیزوفرنی و ...) بوسیله ژنومیکس شناسایی شده‌اند. تعیین توالی ژنوم که چند سال قبل هزینه‌هایی میلیون دلاری داشت، امروزه و با استفاده از روش‌های جدید به حدود ۱۰۰ دلار رسیده و پیـش‌بینی می‌شود از این نیز کمتر شود. از حیث زمانی نیز مدت زمان انجام این آزمایـشات با روش ژنومیکـس امروزه بسـیار کوتاه‌تر گردیده است. بنابراین بسـیاری از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی در جهان مجهز به دسـتگاههای تعیین توالی ژنوم افراد برای اهداف پزشـکی و سلامت می‌باشند.

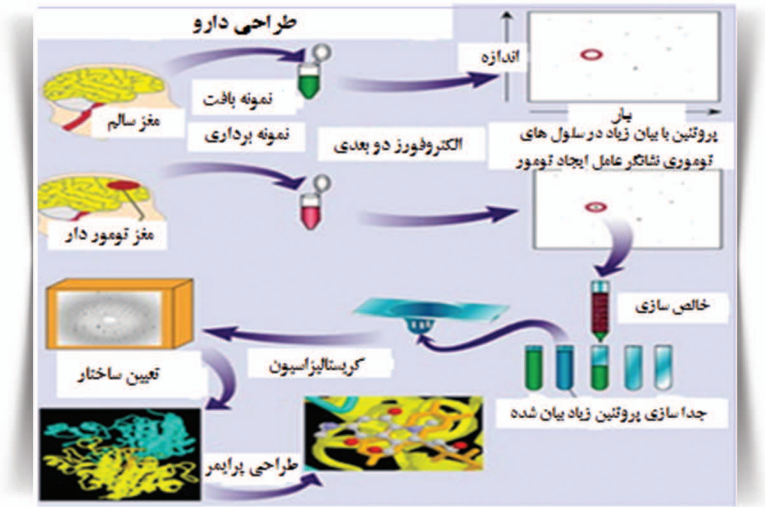
۱-۵-۲- پروتئومیکس[۴]

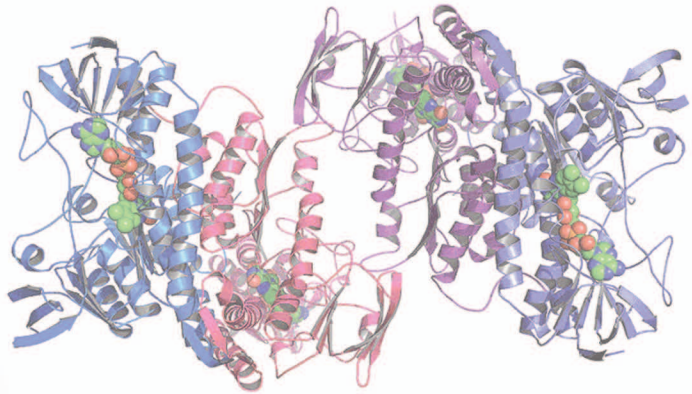
پروتئومیکس به معنی مطالعه ساختار و عملکرد پروتئین‌های یک سلول، بافت و یا فرد می‌باشد. به علت نقش کلیدی که پروتئیـن‌ها در مسیرهای متابولیکی و فیزیولوژیکی بر عهده دارند به عنوان اجزای حیاتی سلول‌های موجودات زنده به شمار می‌روند.

اولیـن مـطالعه در زمینه پروتئومیـکس بر روی پروتئـین‌های باکتـری Ecoli بوسـیله الکـتروفورز دو بعدی توسـط پترسـون[۵] در سـال ۱۹۷۵ انجام پـذیرفت. در ایـن روش ابتـدا پروتئـین‌ها بر اسـاس pH ایزوالکـتریک خـود در یـک

۱. Genomics
۲. Thomas Roderick
۳. Human Genome Project
۴. proteomics
۵ Patterson

فاز جداسازی گردیده و در فاز بعدی بر مبنای جرم مولکولی خود از یکدیگر تفکیک می‌گردند. با مقایسه باندهای پروتئینی حاصل از الکتروفورز نمونه بیمار و نمونه سالم، پروتئین ناقص شناسایی گردیده و طراحی دارو برای مهار آن صورت می‌گیرد. تعیین مقدار پروتئین در سلول‌ها، بافت ها و مایعات بدن، محاسبه تغییرات بیان پروتئین در سلول‌های بیمار در مقایسه با سلول‌های سالم، بررسی تغییرات پس ترجمه‌ای، بررسی میانکنش های پروتئین-پروتئین، شناسایی و تعیین موقعیت پروتئین‌های سطحی سلول، شناسایی ژن‌های ناشناخته از روی محصولات پروتئینی آنها از دیگر کاربردهای این علم در زیست فناوری پزشکی می‌باشند. مهم‌ترین کاربرد پروتئومیکس در تشخیص‌های کلینیکی، تحقیق و شناسایی بیومارکرهای جدید پروتئینی بیماری‌ها از طریق بررسی و مقایسه نمونه‌های کلینیکی بیماران با افراد سالم می‌باشد. این امر منجر به شناسایی اهداف درون سلولی و طراحی مستقیم و صحیح دارو بر علیه آن می‌گردد..





شکل ۱-۱۳: مراحل پروتئومیکس در طراحی دارو

با این همه پروتئومیکس تا کنون با موفقیت‌های چندانی همراه نبوده است. از دلایل عدم موفقیت آن می‌توان به عوامل زیر اشاره کرد:

- تکنولوژی‌های موجود قادر به ردیابی و آشکارسازی مقادیر بسیار کم پروتئین نیستند.
- مقدار پروتئین مورد نظر ممکن است با توجه به سن یا جنسیت بیمار متفاوت باشد.
- در بیشتر بیماری‌ها بیش از یک شاخص پروتئینی نقش و دخالت دارد.
- پروتئومیکس هزینه‌بر بوده و نیاز به تجهیزات پیشرفته آزمایشگاهی دارد.

۱-۵-۳- بیوانفورماتیک[۱]

یکی از ابزارها و زمینه‌های جدید مرتبط با علم زیست فناوری که امروزه به میزان زیادی کاربرد پیدا کرده است بیوانفورماتیک می‌باشد. بیوانفورماتیک با بهره‌گیری هم‌زمان از علوم کامپیوتر، ریاضیات و مهندسی به بررسی و تفسیر داده‌های بیولوژیکی می‌پردازد. بررسی اطلاعات بدست آمده از پروژه ژنوم انسانی برای تبدیل آنها به اطلاعات کاربردی ارزشمند در جهت اهداف علمی از جمله ثمرات بیوانفورماتیک به حساب می‌آید. امروزه با همه‌گیر شدن تعیین توالی ژنوم افراد، استفاده از بیوانفورماتیک وارد فازهای جدیدی شده و همه روزه شاهد پیشرفت این بخش میان‌رشته‌ای می‌باشیم.

۱-۵-۴- انتقال ژن

انتقال ژن از جمله پیشرفت‌های حوزه ژنتیک مولکولی است که منجر به ایجاد تکنیک ژن درمانی[۲] در حوزه زیست‌فناوری پزشکی گردیده است. در ژن درمانی پلیمرهای اسید نوکلئیک سالم به سلول‌های بیمار انتقال داده می‌شود تا به عنوان جایگزینی برای عملکرد ژن ناقص عمل کنند. برای اولین بار در سال ۱۹۹۰ بود که فرنچ آندرسون[۳] اقدام به انتقال مستقیم DNA انسانی به ژنوم هسته‌ای با هدف درمانی نمود. این روش با روشن یا خاموش کردن ژن هدف در سلول مورد نظر به تصحیح عملکرد ژن‌های ناقص می‌پردازد. دو گروه اصلی از روش های ژن درمانی روش‌های مبتنی بر استفاده از ویروس‌های نوترکیب (که گهگاهی نانوذرات زیستی و یا وکتورهای ویروسی نامیده می شوند) و روش‌های غیرویروسی که با انتقال DNA برهنه[۴] بوسیله روش‌هایی همچون تفنگ ژنی، روش الکتروپوریشن[۵] و یا با کمک لیپوزوم[۶] به درون هسته سلول صورت می پذیرد، می‌باشد.

۱. Bioinformatics
۲. Gene therapy
۳. French Anderson
۴. Nacked
۵ Electroporation
۶ Liposomes

تمامی ویروس‌ها با الحاق به سلول میزبان و انتقال مواد ژنتیکی، سیکل همانندسازی خود را داخل سلول میزبان کامل می‌کنند. این مواد ژنتیکی دستورالعمل‌های پایه‌ای نحوه‌ی تولید نسخه‌های زیادی از ویروس‌ها را به ژنوم میزبان انتقال داده و باعث می‌شوند دستگاه همانندسازی سلول میزبان در راستای تامین نیازهای ویروس فعالیت نماید. در نتیجه سلول میزبان نسخه‌های فراوانی از ویروس‌ها را که منجر به آلوده شدن سلول‌های بیشتری می‌شوند را تولید می‌کند. این رفتار ویروس‌ها باعث شده تا ابزار مناسبی برای انتقال ژن‌های مورد نظر به داخل ژنوم میزبان باشند در این راستا ژنوم ویروس‌ها با دو هدف حذف ژن‌های بیماریزا و الحاق ژن مورد نظر دستکاری شده و ویروس‌های نوترکیب حاصل به عنوان حامل یا وکتور به بدن میزبان انتقال داده می‌شوند. ویروس‌ها انواع مختلفی داشته که هر کدام می توانند برای اهداف خاص به عنوان وکتور در ژن درمانی استفاده شوند. از آن جمله می‌توان به رتروویروس‌ها و آدنوویروس‌ها اشاره کرد.

روش‌های غیرویروسی در مقایسه با روش‌های ویروسی دارای مزایای خاصی از جمله امکان تولید در مقیاس بالا می‌باشند. سطوح پایین انتقال و بیان ژن از نقاط ضعف روش‌های غیرویروسی بوده که پیشرفت‌های اخیر در فناوری وکتور باعث افزایش عملکرد مولکول ها شده و کارایی روش‌های غیر ویروسی به سطح روش‌های انتقال مبتنی بر وکتورهای ویروسی رسیده است. به طور مثال تزریق DNA برهنه روشی ساده برای انتقال DNA به صورت غیرویروسی است اما آزمایشات بالینی اجرا شده در زمینه تزریق درون عضلانی پلاسمیدهای حاوی DNA برهنه با چندین بحث روبرو است؛ در این روش در مقایسه با سایر روش ها میزان بیان کم است. علاوه بر آزمایشات انجام شده با پلاسمیدها، آزمایشاتی با محصولات PCR برهنه نیز انجام شده است. جذب سلولی DNA برهنه به طور کلی ناکارآمد است به همین محققان روی بهبود کارآیی جذب DNA تمرکز کرده اند که باعث ایجاد روش های جدیدی از جمله الکتروپوریشن، سونوپوریشن و استفاده از تفنگ ژنی شده است.

الکتروپوریشن روشی است که از پالس‌های کوتاهی از ولتاژ بالا برای حمل DNA در امتداد غشای سلولی استفاده می‌کند. تصور می‌شود که این شوک سبب شکل گیری موقت منافذ در غشای سلولی شده و این منافذ موجب انتقال مولکول DNA می‌شود. در سونوپوریشن از فرکانس‌های اولتراسونیک برای ورود DNA به داخل سلول‌ها استفاده می‌شود. به نظر می‌رسد فرآیند حفره‌سازی صوتی غشای سلولی را تخریب کرده در نتیجه منجر به حرکت DNA به داخل سلول می‌شود. استفاده از بمباران ذرات یا تفنگ ژنی روش فیزیکی دیگری برای انتقال DNA می باشد. در این فناوری DNA بر روی ذرات طلا پوشیده شده و درون یک وسیله ای که به منظور دست یابی به نفوذ DNA تولید نیرو می کند، بارگذاری می شوند.

یکی از لازمه‌های بهبود انتقال DNA به داخل سلول، حفاظت DNA از صدمات می‌باشد. بدین منظور ساختار لیپوزوم که یک وزیکول میکروسکوپی شامل دو لایه‌ی فسفولیپیدی است مورد توجه می¬باشد. در ابتدا، از لیپیدهای آنیونی و خنثی برای ساخت لیپوپلکس‌هایی (ترکیب لیپید و DNA) با نقش وکتورهای مصنوعی استفاده می‌شد. علیرغم سمیت کم و سازگاری بالای این ترکیبات با مایعات بدن، تولید آنها پیچیده و وقت گیر بوده و توجهات به سمت تولید نسخه های کاتیونی پیش رفت. اولین بار به منظور متراکم نمودن و تسهیل کپسوله کردن مولکول‌های DNA داخل لیپوزوم‌ها از لیپیدهای کاتیونی با بار مثبت استفاده شد. اندکی بعد مشخص شد که استفاده از لیپیدهای کاتیونی به طور معناداری پایداری لیپوپلکس‌ها (ترکیب لیپوزوم و DNA) را ارتقا می‌دهد. همچنین با توجه به بار مثبت، لیپوزوم‌های کاتیونی با غشای سلولی تعامل داشته و به نظر می‌رسد روش اصلی جذب لیپوپلکس‌ها توسط سلول اندوسیتوز است. متداولترین استفاده از لیپوپلکس‌ها در انتقال ژن به داخل سلول‌های سرطانی می‌باشد.

شکل ۱-۱۴: برخی از راه‌های مختلف انتقال ژن در ژن درمانی

۱-۵-۵- سلول‌های بنیادی[۱]

به سلول‌های تمایز نیافته موجودات پرسلولی که از یک سو قادر به تقسیم‌های متعدد و از سویی دیگر توانایی تمایز به سلول‌های اختصاصی را دارند سلول‌های بنیادی گفته می‌شود. سلول‌های بنیادی در پستانداران به دو گروه تقسیم‌بندی می‌شوند:

الف) سلول‌های بنیادی جنینی که از بلاستوسیت جنین بدست می‌آیند.

ب) سلول‌های بنیادی نوزادی و بزرگسالی که از بافت‌های مختلف بدن بدست می‌آیند.

شکل ۱۵ ۱: پژوهشکده رویان یکی از مراکز اصلی فعال در حوزه سلول‌های بنیادی

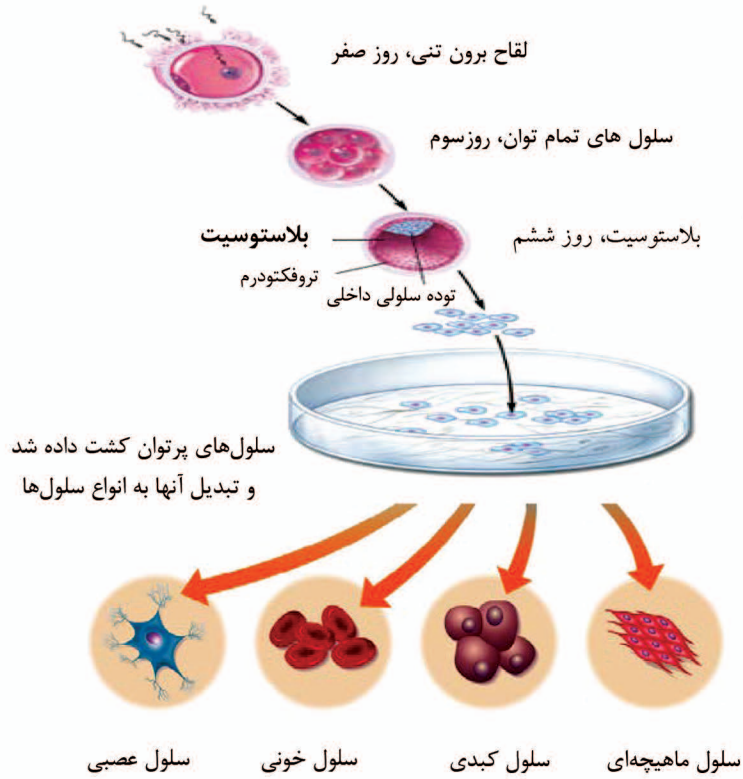
پیشرفت‌های اخیر در حوزه سلول‌های بنیادی[۲]، راه را برای استفاده از این سلول‌ها در درمان بیماری‌ها باز نموده است. درمان با استفاده از سلول‌های بنیادی به استفاده از این سلول‌ها برای مهار یا درمان بیماری گفته می‌شود. از بین ویژگی‌های سلول‌های بنیادی داشتن کاریوتیپ نرمال، حفظ فعالیت بالای تلومراز و پتانسیل تکثیر طولانی مدت قابل توجه هستند.

سلول‌های بنیادی جنینی حاصل از بلاستوسیت جنین اولیه پستانداران، پرتوان بوده، می توانند تمایز یافته و اکتودرم ابتدایی را تولید کنند که در نهایت در طول گاسترولاسیون به همه اجزا سه لایه جوانه شامل اکتودرم، مزودرم و اندودرم تمایز می‌یابند. این سه لایه بیشتر از ۲۲۰ نوع سلول را در بدن بزرگسالان تشکیل می دهند.

۱. Stem cells
۲. Stem cell therapy

به عبارتی سلول های بنیادی جنینی ازسلول‌های بنیادی بالغ که در بزرگسالان وجود دارند، توسط خاصیت پرتوانی متمایز می‌شوند. درحالـــیکه، سلول های بنیادی جنینی می‌توانند انواع سلول‌ها را ایجاد کنند، سلول های بنیادی بالغ چندتوان بوده و قادرند تنها تعداد محدودی از انواع سلولی را تولید کنند.

چنانچه بتوانیم پتانسیل پرتوانی ســلول‌های بنــیادی جنیــنی (تمایز به انواع سلول‌ها) را بصورت برون تنی تحت کنــترل درآوریم، ممـکن است بتوان از این سلول‌ها به عنوان وســیله‌ای برای ایجــاد انــواع ســلول یـا انواع بافت¬های مورد نیاز استفاده کرد. مغز استخوان و سلول‌های خــونی بند ناف به ترتیب از جمله منابع اصلی سلـول‌های بــنیادی بزرگســالی و نوزادی می‌باشند. با تزریق سلول‌های بنــیادی به بافت یا انــدام هــدف، سلول بنــیادی به جستجو پرداخــته و ناحیه آسیب دیده را شناسایی و به ترمیم و درمان ناحیه مزبور می‌پردازد. همچــــنین سلول‌های بنـیادی در ناحیه آسیب به سرعت تــکثیر می‌یابند که این امــر نیــز به تحــریک مکانیسم‌های ترمیمی بدن منجر می‌شــود. از ســلول‌های بنیــادی برای درمان بیــماری‌های تحلیل ســلول‌های عــصبی[1] همــچون آلزایــمر و هـمچنــین ناراحتی‌های قلبی، دیابت، درمان طاســی سر و... استــفاده می‌شود.

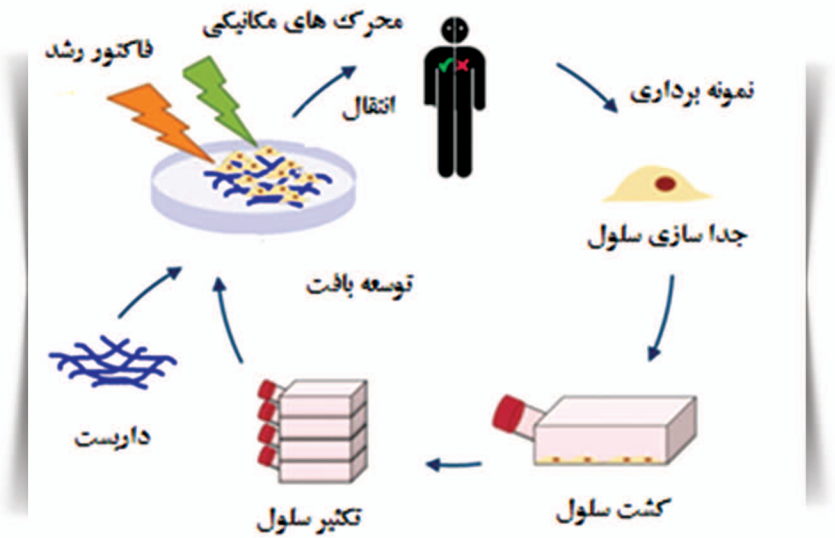


شکل ۱-۱۶ : مسیر بدست آمدن انواع سلول‌ها از سلول‌های بنیادی جنینی

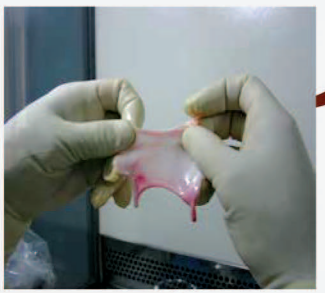
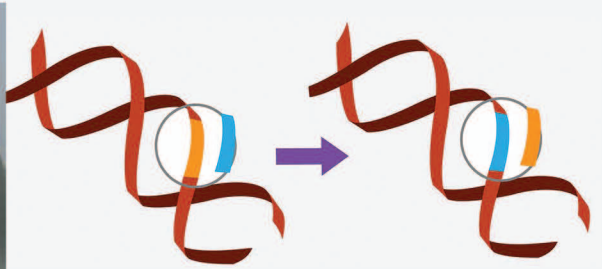
۱ . neurodegenerative

۱-۵-۶- مهندسی بافت[۱]

به رشد بافت‌های پیوندی یا ارگان‌های جدید روی داربست‌های کلاژنی برای تولید یک اندام دارای عملکرد و جایگزین کردن مجدد آن به فرد بیمار، مهندسی بافت گفته می‌شود. این بخش در سال‌های اخیر پیشرفت‌های خوبی داشته و تولید بافت‌هایی همچون استخوان، غضروف، پوست، عضله، قلب و کلیه نمونه‌هایی از موفقیت‌های آن محسوب می‌شود. به چنین بافت‌هایی بیوایمپلنت[۲] گفته می‌شود. جمهوری اسلامی ایران نیز در این زمینه سرمایه‌گذاری قابل توجهی نموده و هم‌اکنون تکنولوژی ساخت بیوایمپلنت‌های استخوانی و بیوایمپلنت تاندون‌های بیولوژیکی را در اختیار دارد. ساخت بیوایمپلت کار بسیار حساسی است و در اتاق‌های تمیز[۳] و تحت شرایط کاملاً استریل صورت می‌گیرد.



۱. Tissue engineering
۲. Bio implant
۳. Clean room

شکل ۱ -۱۸: نمونه ایمپلنت ساخت ایران و نمونه اتاق تمیز

۱-۵-۷- ویرایش ژن[۱]

ویرایش ژن که با استفاده از روش‌هایی مانند کریسپر[۲] مقدور شده، امروزه یکی از روش‌های نوین برای درمان بسیاری از بیماری‌ها محسوب می‌شود. اگرچه این روش با محدودیت‌های اخلاقی روبروست ولی بسیاری از کشورها برنامه‌های کلانی برای اجرایی شدن آن در پیش گرفته‌اند.

کریسپرکه مخفف تناوب‌هایِ کوتاهِ پالیندرومِ فاصله‌دارِ منظمِ خوشه‌ای[۳] می‌باشد، نوعی فناوری جدید برای ویرایش DNA است که به دانشمندان امکان می‌دهد بسیار دقیق‌تر و بهتر از روش‌های قبل، هر ژنی را در هر موجود زنده‌ای ویرایش و تغییرات لازم را در آن اعمال کنند.

کریسپر در سال ۱۹۸۷ در باکتری اشرشیاکلی کشف شد. دانشمندان متوجه شدند که در ژنوم باکتری، قطعاتی از مولکول DNA پشت سر هم یا با فاصله تکرار می‌شوند. سال‌ها بعد و در سال ۲۰۰۷ بود که مشخص شد این توالی‌های تکرار شونده در واقع سیستم ایمنی اکتسابی باکتری به خصوص در مقابل ویروس‌ها می‌باشد.

همان گونه که سیستم ایمنی موجودات پیچیده‌تر مثل انسان با قرار گرفتن در معرض میکروب‌ها نحوه مقابله با آنها را یاد می‌گیرد، باکتری‌ها نیز با استفاده از کریسپر، ژنوم ویروس را تخریب و از خود محافظت می کنند. اعلام این پدیده در سال ۲۰۱۲ و آزمایشات اولیه استفاده از این تکنیک به عنوان یک فناوری جهت ویرایش ژنوم طی سال‌های ۲۰۱۳ تا ۲۰۱۵ انجام شده است.

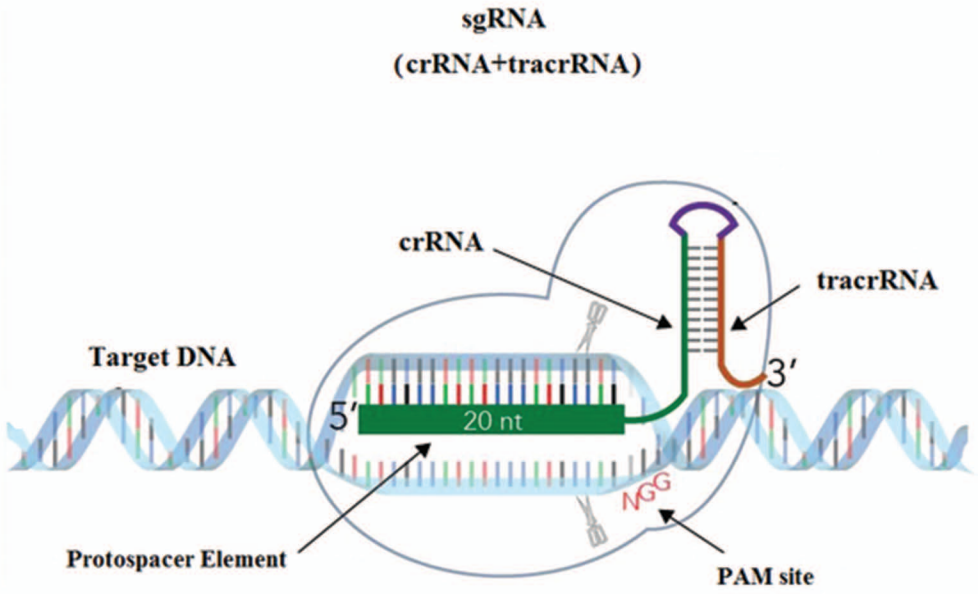
بخشی از سیستم کریسپر، پروتئینی به نام کَس[۴] ۹ است، که قابلیت جستجو، برش زدن و استحاله DNA ویروس را به روشی خاص دارد. بر این اساس فناوری کریسپر به دانشمندان اجازه می‌دهد، تغییرات مورد نظر

۱ . Gene editing
۲ . crisper
۳ . Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
۴ . Cas9

را در DNAسلول‌ها و بدون انتقال DNA خارجی به ژنوم، ایجاد کنند. به زبان ساده‌تر کریسپر را میتوان تکنیکی با توانایی بریدن و جداکردن ژن معیوب از ترکیب ژنتیکی سلول معرفی نمود.

پروتئین Cas۹ یک پروتئین با خاصیت اندونوکلئازی بوده که توالی‌های مشخص در DNA هدف را شناسایی و سه یا چهار نوکلئوتید بالادست آن را برش میدهد. در این سیستم tracrRNA[۱] بعد از هیبریداسیون با crRNA[۲] به کمک sgRNA[۳] و سپس اتصال به Cas۹ باعث فعال شدن سیستم کریسپر می‌گردد. با جفت شدن توالی اختصاصی protospacer element در crRNA (یا sgRNA) با توالی هدف در DNA مورد نظر، Cas۹ با خاصیت اندونوکلئازی خود برش دلخواه را در ناحیه اختصاصی در DNA هدف ایجاد میکند . بعد از برش توسط کریسپر ویرایش توسط دو مسیر احتمالی ادامه داده خواهد شد. مسیر اول اتصال پایانه‌های غیرهمسان است که مستعد خطا بوده ولی کارآیی بالاتری داشته و مسیر دیگر نوترکیبی همولوگ است که طبق الگوی DNA طراحی شده صورت میگیرد. یکی از مهم ترین مزایای استفاده از این سیستم آن است که انجام آن بدون دخالت در مکانیسم‌های داخل سلولی منجر به غیر فعال کردن یک ژن یا خارج نمودن کامل ژن از سلول می‌گردد. بنابراین از این روش می‌توان در درمان بیماری‌هایی همچون انواع سرطان و تحقیقات مربوط به شناسایی ژن‌های معیوب در بیماری‌های ژنتیکی استفاده کرد.

۱ transactivating RNA
۲ CRISPR RNA
۳ single-guide RNA



شکل ۱-۱۹. نمایی شماتیک از سیستم CRISPR-Cas۹

بخش دوم:

کاربردهای زیست فناوری در صنعت

۲-۱ - زیست فناوری صنعتی

زیست فناوری صنعتی که عمدتاً در اروپا به عنوان زیست‌فناوری سفید شناخته می‌شود، استفاده از زیست فناوری برای اهداف صنعتی است. این عمل با استفاده از میکروارگانیسم‌ها و یا اجزای سلولی آن‌ها، همچون آنزیم‌ها، برای تولید محصولات صنعتی مفید و در صنایع مختلف مانند مواد شیمیایی، غذا و تغذیه، مواد شوینده، کاغذ و خمیرکاغذ، منسوجات، سوخت‌های زیستی و مواد پلیمری انجام می گیرد.

شکل ۱ - ۱: برخی از محصولات حاصل از زیست فناوری صنعتی

۲-۲ - توسعه پایدار و نقش زیست فناوری صنعتی

توسعه پایدار به معنای تلفیق اهداف اقتصادی، اجتماعی و زیست محیطی برای رفاه حداکثری انسان بدون آسیب به توانایی نسل‌های آتی برای برآوردن نیازهایشان می‌باشد.

بعد از صنعتی شدن جوامع، پیشرفت‌های چشمگیری در شرایط اقتصادی و اجتـماعی بسیاری از کشورها حاصل شد اما مسئله‌ای که مورد غفـلت واقع گردید محیط‌زیست بود، به نحوی که بسیاری از این صنایع مخرب محیط‌زیست بوده و لطمات جبران ناپذیری به محیط‌زیست وارد نمودند. همین مسئله باعث شده تا توسعه پایدار و حفاظت از محیط‌زیست در مقابل پیشرفت‌های صنعتی از اهمیت بالایی برخوردار گردد..

طی چند سال گذشته پیشرفت‌های چشمگیر زیست‌فناوری و استفاده از موجودات زنده برای تولید بسیاری از مـحصولات صنعتی مسـیر را برای جلوگیری از تخریب محیط‌زیست باز نموده است. بر این اساس باید گفت زیست فناوری صنعتی تأثیر مستـقیم و مثبتی بر هر سـه بخش توسعه پایدار یعنی جامعه، اقتصاد و محیط‌زیست دارد. به‌طور خلاصه می‌توان گفت که زیست فناوری صنعتی نقش اساسی در اقتصاد زیسـتی دانش‌بنیان داشته، باعث افزایش ارزش مواد حاصل از صنعت و کشاورزی شده و همچنین در تولید مواد جدید نقش داشته است.

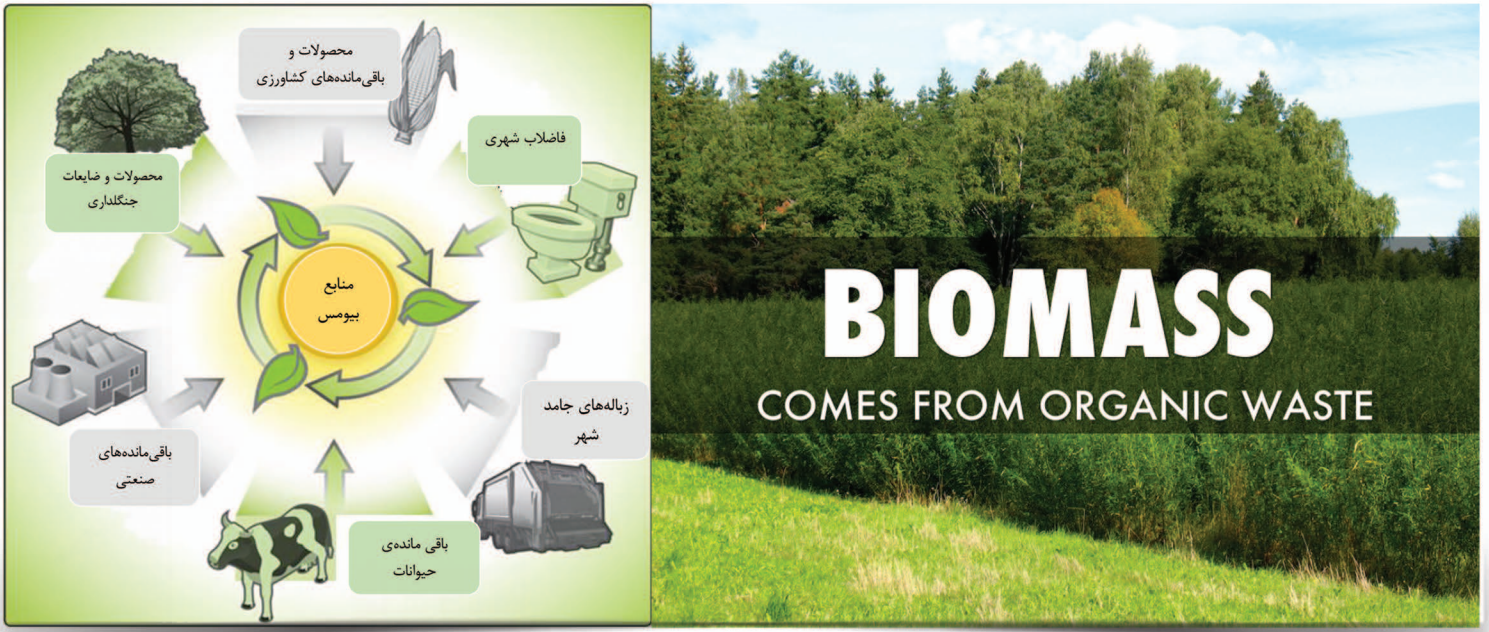
تعدادی از قابلیت‌های زیست‌فناوری صنعتی در زمینه‌ی محیط‌زیست را میتوان تولید حداقل ضـایعات و مواد آلایـنده و مضـر برای محیط‌زیست، تولید محصولات زیست‌تخریب‌پذیر، استفاده بهینه و حداقلی از انرژی، حداقل استفاده از حلال‌ها و مواد شیمیایی در طول فرآیند، تولید محصولات غیر مضر برای محیط‌زیست، تولید سوخت‌های زیستی (همچون بیواتانول، بیودیزل و...)، استفاده از منابع تجـدیدپذیر به عنوان مواد خام به جای سوخت‌های فسیلی و جلوگیری از انتشار گازهای گلخانه‌ای نام برد.

طی سال‌های گذشته از فرآیندهای آنزیمی و تخمیر عموماً در تولید مولکول‌هایی با ارزش مانند ویتامین‌ها، حد واسط‌های دارویی و طـعم‌دهنده‌ها استفاده شده که مزایای اقتصادی همچون معرفی فرآیندهای مؤثرتر و کم هزینه‌تر را به دنبال داشته است. همچنـین فعالـیت‌هایی جهـت تولید موادی مانند پلیمرهای زیستی، محلول‌های شیمیایی و سوخت‌های زیستی صورت گرفته است..

به طور کلی مزایای محیط زیستی و اقتصادی زیست¬فناوری صنعتی با ایجاد فرصت‌های شغلی جدید و کاهش وابستگی به منابع فسیلی است که منجر به جامعه‌ای پایدار می‌شود.

۳-۲- فرآیند کلی تولید محصول در زیست فناوری صنعتی

به اجزای قابل تجزیه زیستی محصولات، پسماندها و مواد زائد کشاورزی (شامل مواد گیاهی و دامی)، جنگل‌ها و صنایع وابسته و همچنین مواد زائد صنعتی و شهری، زیست توده[۱] می‌گویند. در فرآیندهای تخمیر صنعتی که در زیست‌فناوری انجام می‌پذیرد، عموماً از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها برای تولید فرآورده‌های زیستی از زیست توده استفاده می‌شود. در این فرآیندها زیست توده به عنوان منبع قند استفاده شده و سپس میکروارگانیسم با استفاده از فرآیند تخمیر، محصول مورد نظر را تولید می‌کند. این محصول گاه محصول نهایی است ولی در پاره‌ای از اوقات نیاز به تغییرات دیگری دارد تا به محصول نهایی تبدیل شود.



شکل ۱ -۲: منابع مختلف زیست توده

۱. Biomass

صرف نظر از نوع تخمیر، یک فرآیند تخمیری به طور کلی به مراحل زیر تقسیم می‌شود:

۱ - فرآیند بالادستی[۱]

این بخش شامل چندین مرحله فرعی می‌باشد: انتخاب میکروارگانیسم صنعتی، انتخاب محیط کشت مناسب صنعتی ارزان و مناسب از نظر رشد و تولید محصول، سترون سازی محیط و لوازم کشت و...

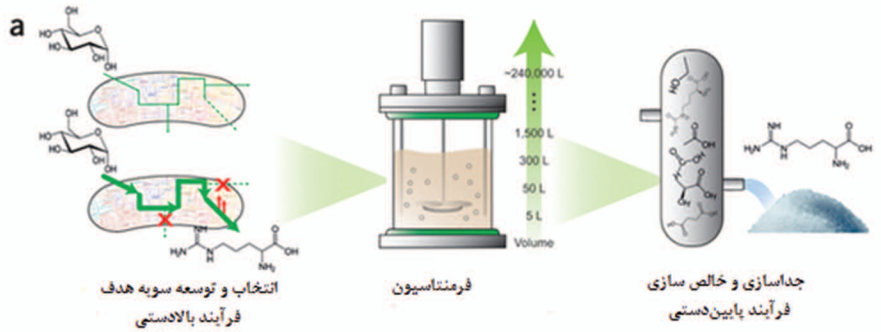
۲ - رشد و تکثیر میکروارگانیسم (فرمنتاسیون[۲])

این بخش به منظور تولید محصول مورد نظر در میکروارگانیسم منتخب است که با توجه به وضعیت تعیین شده قبلی خود شامل مراحل فرعی مانند کنترل فرآیند در حین تخمیر، حفظ وضعیت سترون در حین تخمیر، تأمین مواد افزودنی در حین تخمیر و... می‌باشد.

۳- فرآیند پایین دستی[۳]

شامل مراحل فرعی مانند جداسازی توده زیستی، تخریب دیواره سلولی برای خارج سازی محصولات درون سلولی، تغلیظ محصول[۴]، خالص سازی محصول[۵]، کنترل کمی و کیفی محصول، بسته بندی و ... است.

۱ Upstream processing
۲ Fermentation
۳ Downstream processing
۴ concentration
۵ purification



شکل ۱ ۳: شمای کلی از فرآیند تولید محصول در زیست فناوری صنعتی

۲-۴- کاربردهای زیست فناوری صنعتی

کاربردهای زیست¬فناوری صنعتی بسیار گسترده بوده و از صنایع غذایی و دارویی تا استخراج برخی کانی-ها از معادن را شامل می¬شود. امروزه در برخی از معادن دنیا، استخراج و بازیافت کانی‌های پرارزشی مانند طلا، نقره، مس و اورانیوم به کمک میکروارگانیسم‌ها و با روش‌های زیستی صورت می‌گیرد. تولید صنعتی بسیاری از اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک، اسید استیک و اسید لاکتیک و همچنین تولید روغن‌هایی با ترکیبات اسیدهای چرب ویژه که دارای ارزش بالایی در صنایع غذایی و مواد پاک‌کننده و یا آرایشی هستند، از دیگر زمینه‌های حضور فعال زیست فناوری در صنعت است.

تولید پلاستیک‌های قابل تجزیه ، تولید انرژی‌های تجدید پذیر با استفاده از زیست توده، بکارگیری روش‌های زیست فناوری در افزایش بازیافت و سولفور زدایی نفت خام و پاک¬سازی آلودگی‌های زیست محیطی به کمک فرآیندهای زیستی، از جمله عرصه‌های نوین و با ارزش زیست فناوری به شمار می‌روند.

به طور کلی کاربردهای زیست فناوری صنعتی را می¬توان در حوزه‌های زیر دسته‌بندی می‌شود:

- تولید سوخت‌های زیستی
- تولید استارترها و پروبیوتیک‌ها
- ساخت آنزیم‌های صنعتی

۱ Bioleaching
۲ Green Plastics

- ساخت اسیدهای آمینه و اسیدهای آلی
- تولید مخمرها و خمیرمایه نان
- تولید آنتی‌بیوتیک‌ها و ویتامین‌ها و ترکیبات مرتبط
- ساخت زیست پلیمرها، زیست امولسیفایرها
- تولید و تکثیر ریزجلبک‌ها و
- کاربرد در حوزه محیط زیست

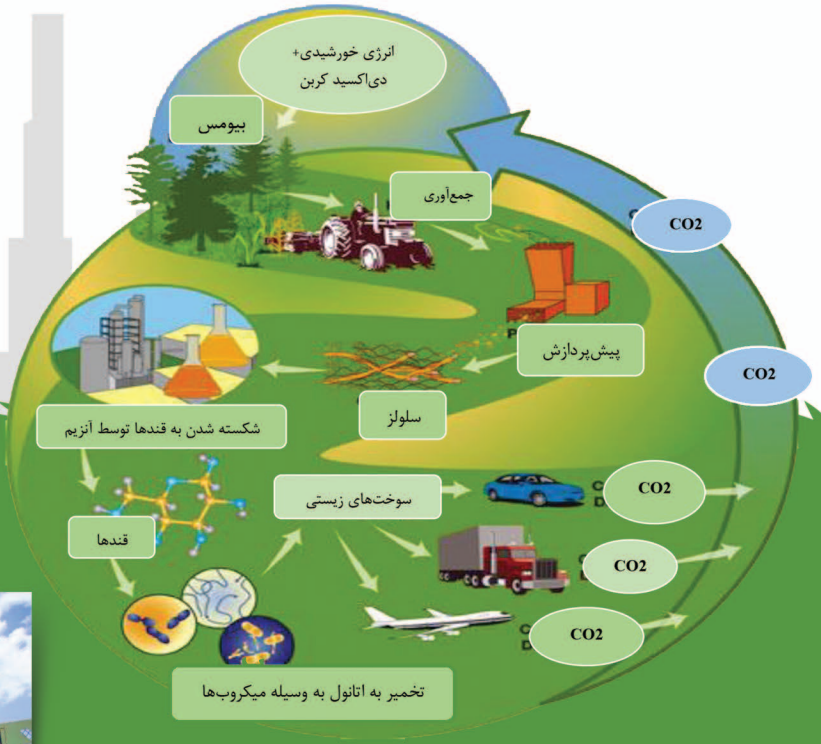
:در ادامه در مورد برخی از این کاربردها توضیحات بیشتری ارائه شده است

سوخت زیستی -۱-۴-۲

فناپذیری سوخت‌های فسیلی، ایجاد تنوع در منابع انرژی، توسعه پایدار، ایجاد امنیت انرژی و مشکلات زیست محیطی ناشی از مصارف انرژی فسیل ی از یک طرف، تجدید پذیر بودن منابع انرژی‌های نو؛ نظیر خورشید، باد، زیست توده و ... از طرف دیگر، باعث جلب توجه جدی جهانیان به توسعه و گسترش استفاده از انرژی‌های تجدیدپذیر و افزایش سهم این منابع در سبد انرژی جهانی شده است. امروزه شاهد افزایش چشمگیر در نحوه فعالی ت‌ها، میزان بودجه دولت‌ها و شرکت‌ها در امر تحقیق و توسعه و عرضه سیستم‌های انرژی‌های تجدیدپذیر می باشیم. این فعالیت‌ها همراه با صرف بودجه‌های کلان در این زمینه موجب کاهش قیمت تمام‌شده انرژی‌های تجدید پذیر شده و در نتیجه رقابت تکنولوژی با سیستم‌های انرژی سنتی .موجود را به دنبال خواهد داشت

.یکی از انواع انرژی‌های تجدیدپذیر سوخت زیستی است که امروزه تولید آن بسیار مورد توجه قرار گرفته است

همان¬طور که در صفحات قبل با زیست توده آشنا شدید، یک منبع عظیم برای فعالیت¬های صنعتی زیست توده می¬باشد. این منبع می¬توان برای تولید سوخت استفاده شود در این صورت سوخت¬های حاصل، سوخت زیستی نام داشته و شامل زیست سوخت‌های جامد، سوخت‌های مایع .و زیست گازهای مختلف می‌باشد



تخمیر به اتانول به وسیله میکروب‌ها

شکل ۲ ۴: خوراک اولیه برای تولید سوخت زیستی

:دو نوع سوخت زیستی اصلی عبارت‌اند از

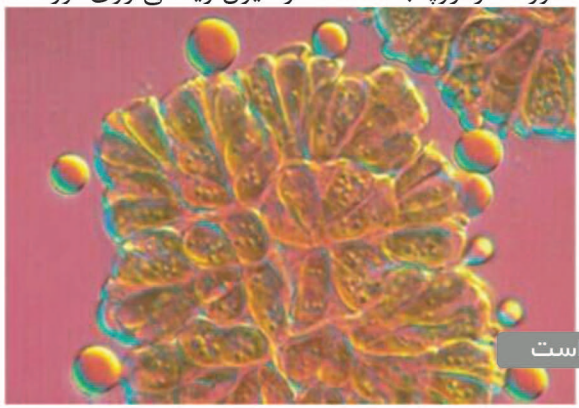
(بیواتانل (اتانول زیستی -۱-۱-۴-۲

اتانول زیستی الکلی است که از تخمیر مواد قندی (مانند شکر و نشاسته) موجود در گیاهان به‌دست می‌آید. در سال¬های اولیه برای تولید این نوع سوخت زیستی عمدتا از گیاهانی مانند نیشکر و ذرت استفاده می¬شد، اما امروزه از سلولزهایی مانند درختان و چمن¬ها و زیست توده به عنوان ماده اولیه استفاده می شود. اتانول زیستی را می‌توان به‌صورت خالص به‌عنوان سوخت خودرو به‌کار برد اما عمدتا بصورت ترکیبی با بنزین استفاده .می‌شود. اتانول زیستی به‌صورت گسترده‌ای در ایالات متحده و برزیل به‌کار می‌رود

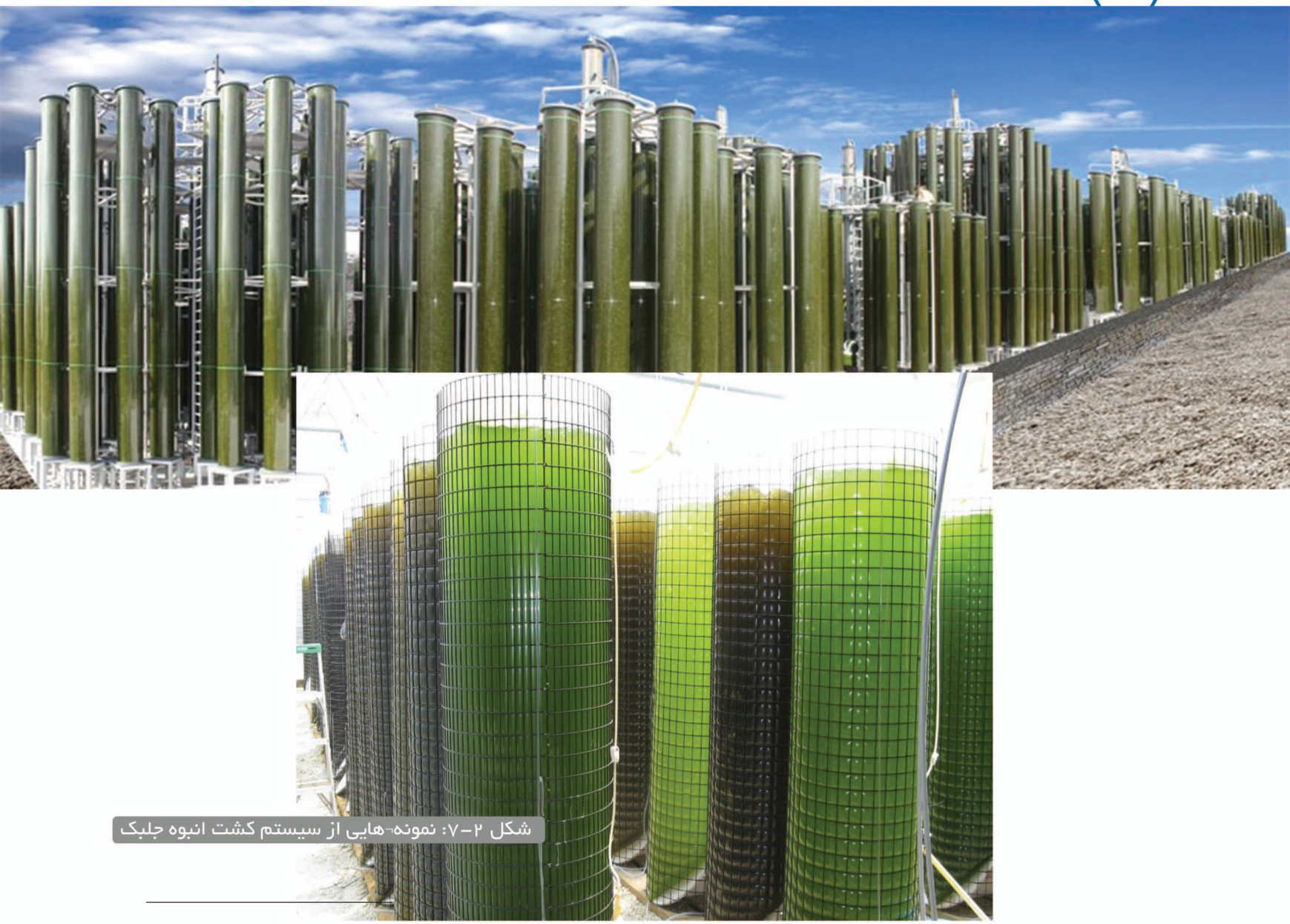
فرآیند کلی تولید این سوخت زیستی بدین شرح است که میکروارگانیسم تخمیر کننده در کارخانه¬های وسیع (فرمانتورهای بزرگ) که خوراک اولیه آنها زیست توده می باشد، کشت داده می¬شوند، میکروارگانیسم با استفاده از فرآیند تخمیر، زیست توده را به اتانول زیستی تبدیل می کند و .سپس در مراحل انتهایی این اتانول زیستی جداسازی می گردد

(بیودیزل (دیزل زیستی -۲-۱-۴-۲

دیزل زیستی یکی دیگر از انواع سوخت‌های گیاهی است که می‌توان از روغن‌های گیاهی و چربی حیوانات آن را تولید و به جای گازوئیل در موتور های گازوئیلی استفاده کرد. یکی از منابع اصلی بیودیزل روغن¬های جلبکی است، بدین صورت که جلبک¬ها کشت داده شده و سپس روغن آنها جداسازی می¬شود و در ادامه با بکارگیری یکسری فرآینده های اضافی این روغن به بیودیزل تبدیل می شود. بیودیزل از ترکیب شیمیایی روغن‌ها ی گیاهی یا حیوانی با هیدروکسید سدیم و متانول (یا اتانول) تولید می‌شود. بسیاری از کشورها در اروپا به استفاده از دیزل زیستی روی آورده‌اند. .در حقیقت از میان دیگر انواع سوخت‌های زیستی، دیزل زیستی مصرف بیشتری در این



شکل ۲ ۶: تصویری از یک کلنی جلبک سبز که قطرات روغن مترشحه از آن مشخص است



شکل ۲-۷: نمونه‌هایی از سیستم کشت انبوه جلبک