Review Article

Nova Biologica Reperta 10(1): 17-32 (2023)

Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115

https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.10.1.17

مقاله مروری

یافته‌های نوین در علوم زیستی

جلد ۱۰، شماره ۱، صفحات ۱۷ الی ۳۲ (۱۴۰۲)

انتشارات دانشگاه خوارزمی

تولید واکسن های گیاهی و آزمایش‌های انجام شده در این مورد به عنوان راهبردی مؤثر جهت مقابله با بیماری‌های عفونی از جمله کووید ۱۹

آزاده نیک نژاد، علی‌رضا شفیع‌زاده اسفندآبادی و فاطمه عبدالهی سروستانی

دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: آزاده نیک‌نژاد، niknejad@khu.ac.ir

چکیده. ظهور ویروس‌های جدید، همواره تهدیدی برای سلامتی افراد جهان بوده است که جدیدترین نمونه آن سویه‌های جدید ویروس کرونا (SARS-CoV-2) و سندروم حاد تنفسی ناشی از آن (ARDS) است. وضعیت کنونی، اهمیت تولید سریع واکسن‌های پایدار ارزان قیمت را که به تجهیزات خنک‌کننده به منظور نگهداری و حمل و نقل نیاز ندارند، بیش از پیش نشان می‌دهد. با این حال در کشورهای در حال توسعه، بیشتر واکسن‌ها هنوز به دلیل هزینه‌های واردات و نیازهای نگهداری و حمل و نقل در دسترس نیستند. بنابراین مهم است که واکسن برای کشورهای در حال توسعه مقرون به صرفه باشد تا واکسیناسیون در مقیاسی وسیع صورت گیرد. واکسن‌های گیاهی نسبت به سایر انواع واکسن و روش‌های تولیدی مقرون به‌صرفه‌تر هستند و می‌توانند در مقادیر زیاد تولید شوند. علاوه‌براین واکسن‌های گیاهی مزایای دیگری هم دارند که در این مقاله به آنها پرداخته می‌شود. با این حال با توجه به اینکه یک محصول دارویی گیاهی قرار است به صورت نیمه فرآوری‌شده (مانند پوره سیب‌زمینی یا رب گوجه‌فرنگی) به‌عنوان واکسن مصرف شود، مهم است که بررسی‌های نظارتی خاصی که برای واکسن‌های تزریقی اعمال می‌شود، برای این محصولات نیز اعمال شود تا عوارض مصرف آنها از نظر بالینی بررسی شود. مقاله مروری حاضر به بررسی فرصت‌ها و چالش‌های تولید واکسن‌های گیاهی به منظور مقابله با بیماری‌هایی مانند کووید ۱۹ می‌پردازد.

واژه‌های کلیدی. بیماری کووید-۱۹، سندروم حاد تنفسی ۲، کشاورزی مولکولی، گیاه تراریخته، واکسن خوراکی

Plant-based vaccines production and conducted experiments in this case, as an effective strategy to combat infectious diseases, such as Coronavirus disease (COVID-19)

Azadeh Niknejad, Alireza Shafizadeh EsfandAbadi & Fatemeh Abdollahi Sarvestani

Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

Correspondent author: Azadeh Niknejad, niknejad@khu.ac.ir

Abstract. The emergence of new viruses has always been a threat to the health of people around the world, the latest example of it is the new strains of the coronavirus (SARS-CoV-2) and the resulting acute respiratory distress syndrome (ARDS). The current situation underscores the importance of rapidly producing low-cost stable vaccines that do not require refrigeration equipment for storage and transportation. However, most vaccines are not yet available in developing countries due to import costs and storage and transportation needs. Therefore, the vaccine must be affordable for developing countries so that vaccination can be carried out on a large scale. Herbal vaccines are more cost-effective than other types of vaccines and production methods and can be produced in large quantities. In addition, herbal vaccines have other benefits that are discussed in this article. However, given that an herbal medicinal product is to be used as a vaccine in a semi-processed form (such as mashed potatoes or tomato paste), specific regulatory reviews must apply to injectable vaccines. Products should also be applied to evaluate their side effects clinically. The current review article investigates the opportunities and challenges of producing plant-based vaccines to deal with diseases like Coronavirus disease (COVID-19).

Key words. Coronavirus disease (COVID-19), Molecular farming, Oral vaccine, SARS-CoV-2 virus, Transgenic plant

Received 05.06.2022/ Revised 21.12.2022/ Accepted 07.01.2023/ Published 20.06.2023

دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۵/ اصلاح: ۱۴۰۱/۰۹/۳۰/ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۷/ انتشار: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

مقدمه

در حال حاضر، جهان جمعیتی حدود بیش از ۷/۹ میلیارد نفر دارد و اکثریت افراد نیازمند راه‌حلی مقرون به صرفه از نظر بهداشت و سلامت هستند (Zaer & Kolivand, 2019). از آنجایی که بیشتر واکسن‌ها در کشورهای توسعه نیافته تولید نمی‌شوند، عرضه آنها به این کشورها گران، کند و اغلب به سختی انجام می‌شود (Hefferon, 2014). در نتیجه بدون در نظر گرفتن کمک سایر کشورهای پیشرفته‌تر، اغلب بیشتر واکسن‌ها در این کشورها به دلیل هزینه‌های واردات و نیاز به نگهداری در یخچال و حمل و نقل در دمای پایین به نسبت گران هستند. این منجر به حذف واکسن‌هایی می‌شود که برای ایمن‌سازی عموم مردم ضروری هستند. بنابراین مهم است که واکسن برای کشورهای در حال توسعه مقرون به صرفه باشد تا واکسیناسیون در مقیاسی وسیع صورت گیرد (Shahid & Daniell, 2016). لذا نیاز به روش‌های جایگزین تولید واکسن وجود دارد (Hefferon, 2014). در این شرایط واکسن‌های گیاهی خوراکی پتانسیل خوبی به خصوص برای مصرف در کشورهای جهان سوم دارد زیرا هزینه‌های حمل و نقل آنها کم‌تر است و توزیع واکسن نیاز به پرسنل و شرایط تزریقی استریل ندارد (Zaer & Kolivand, 2019).

استراتژی‌های تولید واکسن‌های گیاهی

بسیاری از واکسن‌های گیاهی خوراکی به‌عنوان تقویت کننده سیستم‌های ایمنی استفاده می‌شوند. امروزه برای تولید واکسن‌های گیاهی برای این منظور از سیستم‌ها و روش‌های مختلفی استفاده می‌شود (Chan et al., 2016) (جدول ۱).

با توجه به اینکه روش‌های متعددی به منظور تولید واکسن گیاهی وجود دارد، درباره اینکه کدام روش بیان به منظور تولید واکسن گیاهی بهتر است، باید در نظر گرفت که کدام گونه گیاهی و سیستم بیان بهترین تناسب را در هر شرایطی دارد (Hefferon, 2014). موضوع کلیدی در مورد واکسن‌های گیاهی امکان خوراکی بودن واکسن است. دراین مورد، زمانی‌که واکسن به صورت خوراکی مصرف می‌شود، انتظار می‌رود آنتی‌ژن‌ها از طریق Bioencapsulation، در برابر اسیدها و آنزیم‌های معده محافظت شوند، زیرا آنزیم‌های گوارشی انسان قادر به شکستن پیوندهای گلیکوزیدی در کربوهیدرات‌های تشکیل دهنده دیواره سلولی گیاهی نیستند. با این حال، زمانی که سلول‌های گیاهی سالم حاوی واکسن به روده می‌رسند، میکروب‌های معمولی، دیواره سلولی را هضم کرده و آنتی‌ژن‌ها را آزاد می‌کنند و باعث ایجاد پاسخ ایمنی می‌شوند. همچنین هنگامی‌که آنتی‌ژن‌ها با ادجوانت‌های مخاطی مناسب (مانند زیرواحد B توکسین وبا) ترکیب می‌شوند، به‌طور موثرتری به سیستم ایمنی ارائه می‌شوند. در میان میزبان‌های گیاهی ثابت شده است که سیب زمینی تراریخته یک سیستم بیانی عالی است که می‌تواند به منظور تولید واکسن گیاهی خوراکی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین به منظور تولید واکسن گیاهی خوراکی، از گوجه فرنگی اصلاح ژنتیکی شده برای تولید واکسن هاری استفاده شده است (Monreal-Escalante et al., 2022). اگر چه بسیاری از میزبان‌های گیاهی برای تولید بیولوژیک مورد بررسی قرار گرفته‌اند، اما در حال حاضر *Nicotiana benthamiana* به‌عنوان میزبان اصلی شناخته شده است (LeBlanc et al., 2020).

روش‌های فعلی بیان برای پروتئین‌های نوترکیب که از سلول‌های گیاهی به‌عنوان میزبان استفاده می‌کنند به سه دسته کلی تقسیم‌بندی می‌شوند که شامل تراریخته شدن پایدار هسته سلول‌های گیاهی یا کلروپلاست و تراریخته شدن موقت گیاهان است که در ادامه به توضیح هر یک از آنها پرداخته می‌شود (Rosales-Mendoza et al., 2020) (جدول ۲).

تولید واکسن گیاهی با استفاده از تراریخته کردن و بیان پایدار آنتی‌ژن در گیاه

برای سال‌های متمادی، ژنوم هسته‌ای هدف اصلی مطالعات انتقال ژن گیاهی بوده است که باعث شده است تا تولید آنتی‌ژن‌های واکسن نوترکیب با تراریخته کردن هسته در گیاهان به نسبت به آسانی انجام شود. این روش به نسبت به زمان بیشتری برای تولید رده‌های تولیدکننده آنتی‌ژن نیاز دارد. با این وجود، این روش از نظر هزینه، سهولت حمل و نقل و ایمنی‌زایی مناسب است و همین موارد باعث شده است که امکان توسعه واکسن‌های گیاهی خوراکی با استفاده از این روش فراهم شود. با استفاده از این روش انواعی از واکسن‌های گیاهی علیه وبا و برخی دیگر از بیماری‌های روده‌ای و ویروسی و البته علیه بیماری‌های مشترک بین انسان و دام مانند سل، سارس، لیستریوزیس و مالاریا تولید شده است (Meriç et al., 2021; Shahid & Daniell, 2016) (جدول ۳).

تولید واکسن گیاهی با استفاده از تراریخته کردن و بیان موقت آنتی‌ژن در گیاه

بیان موقت ژن جایگزینی سریع و قابل دست‌ورزی برای گیاهان تغییر ژنتیکی داده شده است. در ابتدا، بیان موقت در گیاه با استفاده از روش *Agroinfiltration* برای ارزیابی میزان بیان پروتئین‌های نوترکیب در گیاهان مختلف به منظور انتخاب بهترین رده‌های گیاهی تراریخته انجام می‌شد. برای این منظور، سوسپانسیون *Agrobacterium* به سمت پشت برگ‌ها نفوذ می‌کند (شکل ۱).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

جدول ۱- فهرست گزینه‌های بیان در سیستم‌های گیاهی (Niknejad, 2018).

Table 1. List of expression options in plant systems (Niknejad, 2018)

گزینه‌های موجود جهت بیان در سیستم‌های گیاهی
انواع گیاهان میزبان
تک‌لپه‌ای / دولپه‌ای
خوراکی / غیرخوراکی
انواع روش‌های تراریخته کردن گیاه
از نظر ساختار زیستی ناقل (ویروسی / باکتریایی)
از نظر فیزیکی (بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی، الکتروپوریشن، Agroinfiltration (نفوذ با استفاده از تزریق و یا خلأ)
روش‌های بیان
پایدار / موقت (گذرا)
بیان پایه به میزان یکسان در تمام بافت‌های گیاه / بیان بیشتر در بافتی خاص از گیاه
محل بیان
کل پیکره گیاه
بافتی خاص از گیاه
بیان با استفاده از کشت رده سلولی خاص گیاهی
محل بیان و تجمع در سلول
سیتوپلاسم / آپوپلاست
پلاست‌ها
سایر اندامک‌ها

گیاهی که بیشتر برای این آزمایش‌ها استفاده می‌شود *N. benthamiana* است، اما *Nicotiana tabacum* و همچنین گیاهان دیگری مانند *Arabidopsis thaliana*، گوجه فرنگی یا کاهو نیز می‌توانند استفاده شوند. علاوه بر انتخاب گونه‌های گیاهی، مرحله نمو و وضعیت فیزیولوژیکی گیاهانی که ژن به آنها وارد شده می‌تواند تأثیر عمده‌ای بر سطح بیان پروتئین‌های هدف داشته باشد. هنگامی‌که تزریق *Agrobacterium* به همراه یک مهارکننده سرکوب‌کننده بیان ژن پس از رونویسی (Post-transcriptional gene silencing) مانند HcPro ویروس Y سیب‌زمینی انجام می‌شود، میزان بیان افزایش میابد. به دلیل میزان و سرعت تولید بیشتر بیان پروتئین، این روش با روش نفوذ در بافت گیاهی با استفاده از خلاء توسعه داده شده است (Wang & Ma, 2012).

روش‌های بیان موقت با استفاده از *Agrobacterium tumefaciens* و یا ویروس‌های گیاهی، یا هیبریدهایی که مزایای هر دو را دارند، منجر به توجه دوباره به واکسن‌های گیاهی شده است. زیرا بیان موقت در گیاهان می‌تواند بسیار سریع‌تر از تخمیر یا روش‌های مبتنی بر تخم مرغ که برای تولید واکسن آنفلوانزا از آنها استفاده می‌شود، به همه‌گیری‌های در حال ظهور یا بیوتروریسم پاسخ دهد. مزایای این روش سهولت دست‌ورزی، سرعت بیشتر، هزینه کم و به‌طور معمول بیان بیشتر پروتئین نسبت به گیاهان تراریخته به ازای وزن بافت گیاهی است (Mardanova et al., 2017). اما از این بین مزیت اصلی این روش تولید سریع واکسن است. تولید سریع واکسن با استفاده از این روش نه تنها برای تولید داروهای شخصی‌سازی شده بلکه به منظور مقابله با تهدیدات همه‌گیر امکان پذیر است.

پیشرفت‌هایی در روش بیان موقت در سال‌های اخیر گزارش شده است که امکان بیان میزان بی‌سابقه پروتئین را طی ۱ تا ۲ هفته فراهم می‌کند (Wang & Ma, 2012). با استفاده از سیستم‌های بیان موقت که بالاترین بازده بیان پروتئین را دارند می‌توان واکسن‌های خوراکی و تزریقی تولید کرد. این روش در حال حاضر در مقیاس صنعتی برای تولید واکسن‌های VLP به‌کار گرفته شده‌است (Shahid & Daniell, 2016). واکسن‌های گیاهی که با استفاده از این روش تولید شده‌اند در جدول ۴ آورده شده است (Meriç et al., 2021).

تولید واکسن گیاهی با استفاده از تغییر ژنتیکی کلروپلاست

کاربرد اصلی استفاده از واکسن‌های گیاهی به منظور تقویت‌کننده تولید واکسن برای مقابله با ویروس‌های مختلف و به طور خاص ویروس فلج اطفال بوده است. یک روش تولید واکسن خوراکی برای مقابله با این ویروس‌ها، تولید آنتی‌ژن آن در کلروپلاست کاهوی خوراکی بود. تغییر ژنتیکی کلروپلاست اولین تغییر ژنتیکی یک سلول گیاهی بود.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

جدول ۲- روش‌های بیان پروتئین در گیاهان برای تولید واکسن گیاهی و سوابق آزمایش بر MERS و SARS (Rosales-Mendoza et al., 2020).

Table 2. Description of the expression approaches for the production of plant-based vaccines and precedents for MERS/SARS-CoV-1 vaccines (Rosales-Mendoza et al., 2020).

روش	مزایا	معایب	آنتی‌ژن هدف	سابقه بیان پروتئین‌های MERS/SARS
تراریخته کردن پایدار ژنوم هسته‌ای	بیان قابل توارث آنتی‌ژن؛ تولید بانک بذر؛ اصلاحات پس از ترجمه انجام می‌شود؛ برای گونه‌های مختلف روش‌های متفاوتی وجود دارد که بسته به نوع گونه می‌توان از روش خاصی استفاده کرد و بنابراین از نظر روش‌های موجود تنوع وجود دارد.	ورود غیراختصاصی ژن به داخل ژنوم؛ انتقال افقی ژن امکان‌پذیر است؛ بیان ژن تحت‌تأثیر عوامل خاموش‌کننده یا مکان ژنی است؛ تراریخته کردن زمان زیادی می‌برد.	پروتئین S؛ واکسن‌های چند اپی‌توپی	بخش انتهای آمینی پروتئین SARS-CoV-1 S (S1) در گوجه‌فرنگی و گیاهان تنباکوی کم نیکوتین که با استفاده از این روش تراریخته شده بودند بیان شد که باعث القای پاسخ‌های IgA و IgG در موش شد.
تراریخته کردن موقت ژنوم هسته‌ای	تولید سریع؛ بهره‌وری بالا؛ در مقیاس صنعتی اجرا می‌شود.	بانک بذر نمی‌تواند ایجاد شود؛ برای از بین بردن ترکیبات و بقایای سمی میزبان و آگروباکتریوم نیاز به خالص‌سازی آنتی‌ژن دارد.	Sپروتئین واکسن‌های چند اپی‌توپی	یک پروتئین نوترکیب ناشی از GFP و اسیدهای آمینه ۱ تا ۶۵۸ از پروتئین SARS-CoV-1 S (S1:GFP) به‌طور موقت در برگ‌های تنباکوی تراریخته شده با استفاده از این روش بیان شد. پروتئین SARS-CoV-1 N به‌طور موقت در *Nicotiana benthamiana* بیان شد، که در موش‌ها سطوح بالایی از IgG1 و IgG2a و افزایش IFN-γ و IL-10 در سلول‌های طحال را القا کرد. و پروتئین GFPیک پروتئین نوترکیب از به‌طور موقت در گیاهان SARS-CoV-1 S تنباکو بیان شد. به‌طور N و SARS-CoV-1 Mپروتئین‌های بیان شدند. *N. benthamiana*موقت در خاصیت آنتی‌ژنی داشت.Nپروتئین
فناوری تراریخته کردن پلاستم‌ها	بهره‌وری بالا؛ بیان چندژنی امکان پذیر است؛ ایمنی زیستی بهبود یافته زیرا ژنوم تراریخته در این روش فقط از طریق گیاه مادر به ارث می‌رسد بنابراین کنترل آن راحت‌تر است؛ امکان ایجاد نوترکیبی هدفمند و وارد کردن ژن مورد نظر به صورت اختصاصی؛ تحت تأثیر عوامل خاموش‌کننده یا مکان ژنی قرار نمی‌گیرد.	تغییرات پیچیده پس از ترجمه انجام نمی‌شود؛ روش‌های تراریخته کردن برای چند گونه موجود است و تولید رده‌های مختلف با استفاده از این روش‌ها زمان زیادی می‌برد.	واکسن‌های چند اپی‌توپی	یک پروتئین نوترکیب از GFP و اسیدهای آمینه ۱ تا ۶۵۸ از پروتئین SARS-CoV-1 S (S1:GFP) در گیاهان تنباکوی دارای پلاستم‌های تراریخته بیان شد.

این تغییرات ژنتیکی ابتدا با استفاده از روش‌های بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی انجام می‌شد. در حال حاضر، تولید آنتی‌ژن در کلروپلاست مزایایی از جمله تولید پروتئین نوترکیب بیشتر دارد که به تعداد کپی‌های ژنوم کلروپلاست در گیاه بستگی دارد. بنابراین، کلروپلاست می‌تواند برای تولید پروتئین برای واکسن‌های Subunit استفاده شود. اما کلروپلاست، قادر به انجام اصلاحات پس از ترجمه نیست. بنابراین، این روش از این نظر برای تولید واکسن‌ها دارای نقطه ضعف است (Monreal-Escalante et al., 2022). امروزه با تغییر ژنتیکی کلروپلاست، می‌توان واکسن‌هایی علیه بیماری‌های ویروسی مانند فلج اطفال، نقص ایمنی انسانی (HIV)، ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) و همچنین بسیاری از عفونت‌ها و بیماری‌های باکتریایی مسری و کشنده مانند وبا، سل، طاعون و سیاه زخم تولید کرد (جدول ۵) (Meriç et al., 2021).

استفاده از وکتورهای ویروسی به منظور تولید واکسن‌های گیاهی

ویروس‌های گیاهی توانایی‌های مختلفی دارند. از یک طرف، می‌توانند باعث خاموشی ژنی خاص شوند و از سوی دیگر، مکانیسم‌هایی را ایجاد می‌کنند که خاموشی ژن خاصی را سرکوب می‌کنند و باعث تجمع میزان زیادی پروتئین ویروسی در گیاهان آلوده شده می‌شوند که از آن برای دستکاری ویروس‌های گیاهی برای کشاورزی مولکولی در گیاهان استفاده می‌شود. در مقایسه با سایر روش‌های تراریخته کردن که اغلب یازدهی و میزان بیان ناشی از آن‌ها کم است و نیاز به انجام فرآیندهای زمان‌بر است، روش بیان با استفاده از ویروس‌های گیاهی مزیت‌هایی از جمله سهولت و سرعت دارند و در برخی از روش‌ها که با استفاده از وکتورهای ویروسی به تولید واکسن‌های گیاهی می‌پردازند، از بدست آوردن توالی DNA یک پاتوژن ویروسی تا تولید زیرواحدهای آنتی‌ژنی واکسن علیه آن فقط به چند هفته زمان نیاز دارند (Wang & Ma, 2012). در واقع بیان موقت با استفاده از وکتورهای ویروسی از بهترین و سریع‌ترین روش‌های

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

جدول ۳- واکسن‌های گیاهی ساخته شده توسط سیستم تراریخته کردن هسته‌ای/ بیان پایدار (Meriç et al., 2021).

Table 3. Plant-based vaccines developed by nuclear transformation/ stable expression system (Meriç et al., 2021).

گیاه	پاتوژن (بیماری)	آنتی‌ژن	روش انتقال	درصد کل پروتئین محلول یا میکروگرم آنتی ژن به ازای هر گرم زیست توده تازه	ادجوانت (داروی کمکی)	روش ایمن سازی	ارگانیسم هدف	پاسخ ایمنی
Lactuca sativa	ویروس هپاتیت B	آنتی‌ژن سطحی کوچک (S-HBsAg)	راه‌انداز ۳۵S ویروس موزاییک گل کلم (Cam V 35S)/ با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۲۲-۶۳ میکروگرم به ازای هر گرم وزن توده تازه	ژل آلومینیوم هیدروکسید	قرص خوراکی یا تزریق عضلانی (در مجموع ۲۰۰ نانوگرم)	انسان	IgA
Physcomitrella patens	ویروس نقص ایمنی انسان یا HIV (ایدز)	Gp120 و متصل Gp41 به poly-HIV	PEG با واسطه پروتوپلاست	۳/۷ میکروگرم به ازای هر گرم وزن توده تازه	ادجوانت کامل و ناقص Freund	تزریق زیرجلدی (۳۴ نانوگرم)	انسان	IgG
Nicotiana tabacum	*Mycobacterium tuberculosis*(سل)	پروتئین ترکیبی TBAg-ELP	راه‌انداز ۳۵S ویروس موزاییک گل کلم (Cam V 35S)/ با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	٪ ۴ کل پروتئین-های محلول	ادجوانت کامل و ناقص Freund	داخل صفاقی (برای موش ۱۰ میکروگرم، برای خوکچه ۳۶۰ میکروگرم)	انسان	IgG
Lactuca sativa	ویروس سرخک	هماگلوتینین ویروس سرخک (MV-H)	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	در دسترس نیست	فقط در صورت استفاده داخل بینی با ادجوانت (ساپونین خام)	داخل بینی (۴۰ تا ۱۰۰ میکروگرم در کل پروتئین محلول)/ داخل صفاقی (۴۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم در کل پروتئین محلول)/ تزریق عضلانی (۵۰ میکروگرم تک دوز)	انسان (بچه)	IgG
Solanum tuberrosum	IBV (برونشیت عفونی)	پروتئین اسپایک (S)	راه‌انداز ۳۵S ویروس موزاییک گل کلم (Cam V 35S)/ با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۲/۵ میکروگرم به ازای هر گرم وزن غده تازه	بدون داروی کمکی	خوراکی (۳۵ گرم)/ عضلانی (۳۵ گرم عصاره)	طیور	chIL-2
Solanum tuberosum/ Lycopersicon esculentum	Norwalk virus	پروتئین کپسید نوترکیب rNV	تقویت کننده دوگانه راه‌انداز ۳۵S/ با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	*Solanum tuberosum:* ۱۲۰ میکروگرم به ازای هر گرم وزن توده تازه *Lycopersicon esculentum:* ۱۵۰ میکروگرم به ازای هر گرم وزن توده تازه	بدون داروی کمکی	خوراکی (۵ گرم وزن خشک)	انسان	القای تولید IgG در سرم و IgA در روده
Zea mays	ویروس هاری	پروتئین G	راه‌انداز یوبیکوئیتین ذرت/ تراریخته کردن با استفاده از روش بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی	۲۵ میکروگرم به ازای هر گرم وزن توده تازه	بدون داروی کمکی	خوراکی (۲-۰/۵ میلی‌گرم در ۵ دانه ذرت)	انسان و سگ	اطلاعاتی در این مورد در دسترس نیست.
Nicotiana tabacum	*E. coli, S. typhimurium, V. parahaemolyticus*	پروتئین LTBentero	راه‌انداز ۳۵S ویروس موزاییک گل کلم (Cam V 35S)/ با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۵/۲۹ میکروگرم به ازای هر گرم وزن توده تازه	ادجوانت کامل یا ناقص Freund	زیر جلدی (۱۰ میلی-گرم)	انسان	القای تولید IgG و IgA مخاطی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

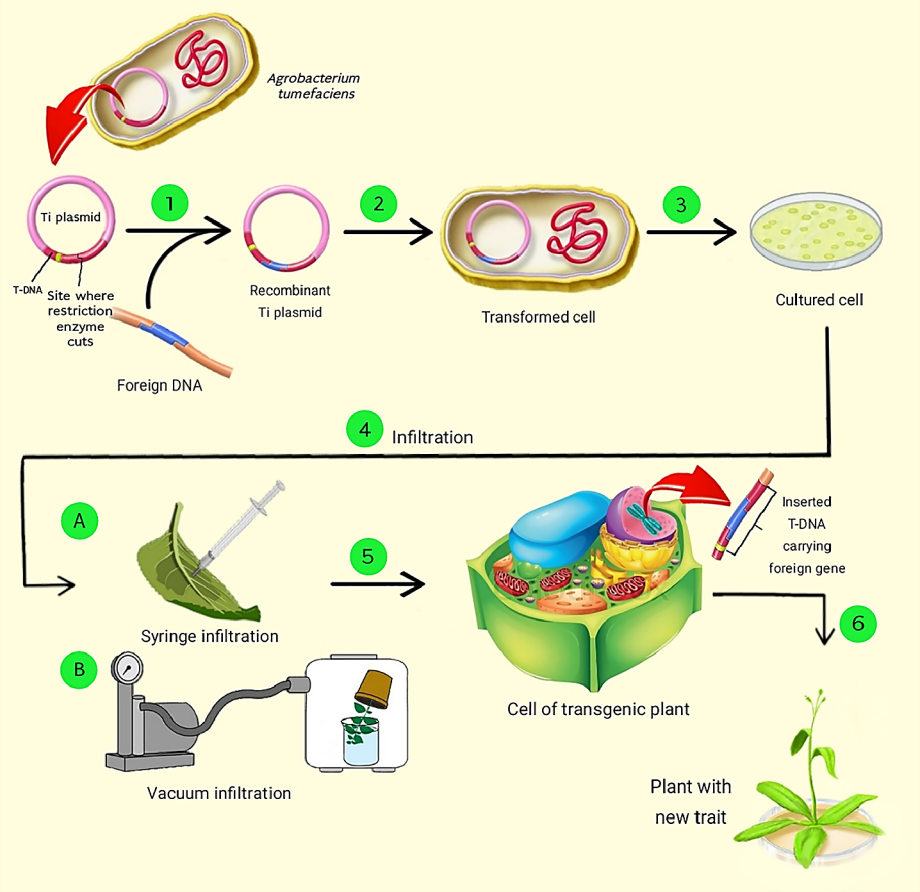
[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

جدول ۴- واکسن‌های گیاهی ساخته شده توسط سیستم بیان موقت (Meriç et al., 2021).

Table 4. Plant-based vaccines developed by a transient expression system. (Meriç et al., 2021).

گیاه	پاتوژن (بیماری)	آنتی‌ژن	روش انتقال ژن	درصد کل پروتئین محلول یا میکروگرم آنتی‌ژن به ازای هر گرم زیست توده تازه	ادجوانت	روش ایمن سازی	ارگانیسم هدف	پاسخ ایمنی
Nicotiana benthamiana	HPV-16 (سرطان دهانه رحم)	E7 متصل به E7SH16	به واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۶ -۰/۴ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن توده تازه	ادجوانت ناقص Freund	زیرجلدی (۵ میکروگرم)	انسان	کاهش اندازه تومور و ترشح IgG
Nicotiana benthamiana	ویروس هپاتیت B	HBsAg	ناقلان ویروسی MagnICON/ با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۰/۶۴ میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن توده تازه	ژل آلومینیوم هیدروکسید	داخل صفاقی (۳۴۶ mIU/mL در هفته)	انسان	پاسخ ضد HBsAg
Nicotiana benthamiana	HIV (ایدز)	Subtype C Envelope gp140	به واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۶/۲ -۴/۹ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن توده تازه	ژل آلومینیوم هیدروکسید	عضلانی (۵۰ میکروگرم)	انسان	در دسترس نیست
Nicotiana benthamiana	ویروس فلج اطفال نوع ۳	پروتئین کپسیدی VP1	به واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن توده تازه	-	صفاقی/ عضلانی	انسان	-
Nicotiana benthamiana	IBDV (بیماری عفونی Burs)	پروتئین ساختاری VP2	به واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۱ ٪ کل پروتئین محلول	ادجوانت کامل و ناقص Freund	عضلانی (۱۲ میکروگرم از پروتئین ساختاری VP2)	طیور	در دسترس نیست
Nicotiana benthamiana	ویروس بیماری پا و دهان	ترکیب پیش‌ساز پروتئین P1-2A و پروتئاز 3C	به واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۳-۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم توده تازه	Montanide ISA 50	تزریق داخل صفاقی (۵۰۰ نانوگرم)	حیوانات تولید کننده گوشت	در دسترس نیست
Nicotiana benthamiana	*Plasmodium falciparum* (مالاریا)	پروتئین سطحی پلاسمودیوم Pf38 ترکیب شده با پروتئین فلورسانس قرمز	راه‌انداز 35S ویروس موزاییک گل کلم/ با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۴-۱۲ میکروگرم به ازای هر گرم توده تازه	Gerbu MM	تزریق داخل صفاقی (۱۷ میکروگرم)	انسان	ترشح IgG

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]



شکل ۱- روش انجام Agroinfiltration با استفاده *Agrobacterium*: (۱) وارد کردن ژن موردنظر به‌درون پلاسمید Ti؛ (۲) وارد کردن پلاسمید Ti نوترکیب به باکتری؛ (۳) رشد سلول‌های باکتریایی در محیط‌کشت؛ (۴) انجام Agroinfiltration به روش (A) نفوذ *Agrobacterium* ازطریق تزریق مستقیم سوسپانسیون حاوی *Agrobacterium* به پشت برگ و یا (B) نفوذپذیری با استفاده از خلأ؛ (۵) واردشدن T-DNA حاوی ژن موردنظر به سلول‌گیاهی، (۶) کشت سلول‌های گیاهی و تولید گیاه تراریخته حاوی ژن موردنظر (Modified from Chincinska, 2021; Rivera et al., 2012).

Figure 1. Agroinfiltration method using *Agrobacterium*: gene insertion into the Ti plasmid (1); recombinant Ti plasmid insertion into the bacterium (2); bacterial cell growth in the medium (3); Agroinfiltration by infiltration of *Agrobacterium* by direct injection of a suspension containing *Agrobacterium* into the back of the leaf (4A); or permeability using a vacuum (4B); insertion of T-DNA containing the gene into the plant cell (5), culture of plant cells and production of a transgenic plant containing the gene (6) (Modified from Chincinska, 2021; Rivera et al., 2012).

موجود به‌منظور بیان پروتئین‌هایی مانند آنتی‌ژن‌های واکسن در گیاه هستند که برای تولید در مقیاس وسیع عمل می‌کنند (Niknejad, 2018). در این روش از ناقل‌های بیانی ویروس گیاهی به‌عنوان وسیله‌ای برای تولید پروتئین‌های درمانی مانند واکسن‌ها و سایر پروتئین‌های نوترکیب مدنظر در گیاهان استفاده می‌شود. در طول چند دهه گذشته، برخی از ویروس‌های گیاهی برای بیان انواع پروتئین‌های دارویی بهینه شده‌اند و در حال حاضر، مجموعه وسیعی از انواع وکتورهای ویروسی در دسترس است و تا به امروز برخی از این پروتئین‌های نوترکیب تولید شده تحت آزمایش‌های پیش‌بالینی یا بالینی هستند (Wang & Ma, 2012; Chen et al., 2017).

روش‌های بیان با استفاده از ویروس گیاهی به واسطه استفاده از روش Agroinfiltration اغلب به‌عنوان روشی جایگزین برای افزایش میزان بیان آنتی‌ژن‌های واکسن در گیاهانی ترجیح داده می‌شود که به‌طور طبیعی میزان بیان پروتئین در آنها کم است و یا این میزان در روش‌های دیگر تراریخته‌سازی کم است (Hefferon, 2014).

واکسن‌های گیاهی با استفاده از روش بیان ویروسی علیه پاتوژن‌های ویروسی، باکتریایی یا انگلی عامل بیماری (که واکسن پیشگیرانه نامیده می‌شود) و بیماری مانند سرطان (به نام واکسن درمانی) در انسان و حیوان تولید شده‌اند (Wang & Ma, 2012).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

جدول ۵- واکسن‌های گیاهی ساخته شده با استفاده از تراریخته کردن کلروپلاست (Meriç et al., 2021).

Table 5. Plant-based vaccines were developed by chloroplast transformation (Meriç et al., 2021).

آنتی‌ژن	بیماری یا پاتوژن	درصد کل پروتئین محلول یا میکروگرم آنتی ژن به ازای هر گرم زیست توده تازه	گیاه	روش ایمن‌سازی	روش انتقال ژن
پروتئین ویروسی ۱	ویروس فلج اطفال	-	*Nicotiana tabacum*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
پروتئین چند اپی‌توپی gp120 و gp41	HIV	۱۶ میکروگرم بر گرم وزن توده تازه	*Nicotiana tabacum*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
ESAT-6 و Mtb72F	*Mycobacterium tuberculosis*	۷/۵٪ برای ESAT-6 و ۱/۲٪ برای Mtb72F	*Nicotiana tabacum*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
MMPI به همراه لنفوتوکسین بتا (LTB)	*Mycobacterium leprae* و *Mycobacterium avium*	-	*Nicotiana benthamiana*	-	پلی اتیلن گلیکول (PEG)
پلی پپتید C4V3	HIV	-	*Nicotiana tabacum*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
پروتئین کپسیدی L1 متصل شده به LTB	ویروس پاپیلومای انسانی	۲٪	*Nicotiana tabacum*	-	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
پلی پروتئین سروتیپ دنگی-۳ (prM/E)	Dengue virus	-	*Lactuca sativa*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
Cholera toxin-B AMA1 MSP1	*Vibrio cholera* (وبا)-*Plasmodium* (مالاریا)	۱۳/۱۷٪ و ۱۰/۱۱٪	*Nicotiana tabacum*	زیر جلدی (SQV) یا خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
Cholera toxin-B AMA1 MSP1	*Vibrio cholera* (وبا)-*Plasmodium* (مالاریا)	۷/۳٪ و ۶/۱٪	*Lactuca sativa*	زیر جلدی (SQV) یا خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
دمین متصل به فیبرونکتین CTB + D2	*Staphylococcus aureus*	۰/۷٪	*Chlamydomonas reinhardtii*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
VP1	ویروس بیماری پا و دهان (FMDV)	۵۱٪	*Nicotiana tabacum*	تلقیح و آغشتن (مایه‌کوبی)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
HIV-1 $Pr55^{gag}$ polyprotein	HIV	۶/۷۵٪	*Nicotiana benthamiana*	-	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
labile toxin B subunit heat-stable toxin (LTB-ST)	اسهال ناشی از ETEC	۲/۳٪	*Nicotiana tabacum*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
E7CP HPV و پروتئینE7	ویروس پاپیلومای انسانی	۰/۵٪ و ۰/۱٪	*Nicotiana tabacum*	-	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
multi-epitope DPT fusion protein	*Corynebacterium diphtheria, Bordetella pertussis, Clostridium tetani*	۰/۸٪	*Nicotiana tabacum*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
F1-V	*Yersinia pestis* (طاعون)	۱۴/۸٪	*Nicotiana tabacum*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
HIV-1 Pr55Gag ،p24 و p17/p24	HIV	۴ میکروگرم به ازای هر گرم وزن توده تازه	*N. benthamiana*	عضلانی	*A. tumefaciens* (با استفاده از کلروپلاست)
پروتئین کپسید L1	ویروس پاپیلومای انسانی	۲۴٪	*Nicotiana tabacum*	تزریق داخل صفاقی	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
پروتئین کپسید L1	ویروس پاپیلومای انسانی	۱/۵٪	*Nicotiana tabacum*	-	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
پروتئین ساختاری E2	ویروس تب خوکی (CSFV)	۲-۱٪	*Nicotiana tabacum*	زیر جلدی و داخل معده	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
TetC	*Clostridium tetani* (کزاز)	۱۰٪	*Nicotiana tabacum*	دهانی و داخل بینی (IN)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
Spike SARS-CoV Protein	سندرم حاد تنفسی ویروس کرونا	۰/۳٪	*Nicotiana tabacum*	خوراکی (ORV)	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
آنتی ژن محافظ (PA)	*Bacillus anthracis* (سیاه زخم)	۲/۷٪ و ۱/۷٪	*Nicotiana tabacum*	-	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی
VP6	روتاویروس	۳٪	*Nicotiana tabacum*	-	بمباران ذره‌ای با استفاده از تفنگ ژنی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

ذرات شبه ویروسی (VLPs) به‌عنوان یک نوع ساختار واکسن گیاهی و مقایسه آن با سایر ساختارهای واکسن‌های گیاهی

یکی از روش‌های تولید واکسن‌های گیاهی، طراحی و تولید ذرات ویروس مانند (VLPs) در گیاهان است (Balke & Zeltins, 2019; Maharjan & Choe, 2021). VLPها نوعی نانوذره ویروسی (VNP) غیرعفونی بوده و حاوی ژنوم ویروسی نیستند (Steele et al., 2017). بنابراین، از VLPها می‌توان به‌عنوان واکسن استفاده کرد (Shoeb & Hefferon, 2019). VLPها به خوبی می‌توانند در گیاهان بیان شوند (Rybicki, 2010). این فرآیند در حال حاضر با استفاده از دو روش مختلف در گیاهان انجام می‌شود:

۱- تولید پروتئین‌های آنتی‌ژنی خاص به روش بیان دائمی توسط سلول‌های گیاهی مهندسی ژنتیکی شده و

۲- بیان موقت پروتئین‌های آنتی‌ژنی خاص با استفاده از *Agrobacterium sap* نوترکیب که با استفاده از خلأ یا روش‌های مشابه وارد برگ‌های گیاه میزبان می‌شوند (Hefferon, 2014).

در بسیاری از موارد VLPها از نظر توانایی در ایجاد پاسخ ایمنی، معادل قرارگیری در معرض ویروس زنده بوده‌اند (LeBlanc et al., 2020). به همین دلیل واکسن‌های نسل جدید بر خلاف واکسن‌های سنتی به‌طور مستقیم از ویروس‌ها ساخته نمی‌شوند، بلکه از پپتیدهای ویروسی نوترکیب یا ذرات شبه ویروس (VLPs) برای تولید آن‌ها استفاده می‌شود. از طرف دیگر واکسن‌های دارای ذرات ویروس مانند (VLPs) نسبت به واکسن‌های پروتئین‌های آنتی‌ژنی منفرد به‌عنوان واکسن‌های Subunit ایمنی‌زایی بیشتری دارند. در واقع واکسن‌های Subunit معمول که حاوی فقط پروتئین‌های آنتی‌ژنی منفرد هستند ایمنی‌زایی پایینی دارند و برای ایمنی‌زایی به استفاده از ادجوانت‌ها و دوزهای بالاتر نیاز دارند (Monreal-Escalante et al., 2022)؛ در مقابل نشان داده شده است که برای برخی از VLPها (به‌عنوان مثال ویروس پاپیلومای انسانی- HPV) تجویز همزمان یک ادجوانت برای ایجاد پاسخ قوی تولید آنتی‌بادی لازم نیست، بنابراین هزینه واکسن را کاهش می‌دهد (Hefferon, 2014). VLPهای کایمریک یک مدل جدیدتر چند ظرفیتی هستند؛ یعنی از آنتی‌ژن پاتوژن‌های مختلف تشکیل شده‌اند (Fang et al., 2017; Monreal-Escalante et al., 2022; Rutkowska et al., 2019). چند ظرفیتی بودن آنها غلظتی از آنتی‌ژن را که در آن فعال‌سازی سلول B انجام می‌شود، کاهش می‌دهد. بنابراین با استفاده از اپی‌توپ‌های متعدد می‌توان از VLPها برای افزایش توانایی واکسن استفاده کرد که منجر به کاهش مقدار دوز واکسن و هزینه‌های تولید واکسن می‌شود (Hefferon, 2014). این استراتژی تولید VLP گیاهی برای مبارزه با بیماری‌های عفونی در مقیاس صنعتی مفید بوده است (Balke & Zeltins, 2019; Maharjan & Choe, 2021).

انواع واکسن‌های گیاهی آزمایش شده به منظور مقابله با بیماری‌ها

واکسن‌های گیاهی را بر اساس کاربرد می‌توان به دو دسته تقسیم کرد: واکسن‌هایی که برای مصارف دامپزشکی طراحی شده‌اند و واکسن‌هایی که برای مصارف پزشکی طراحی شده‌اند.

۱. مصارف پزشکی

از روش بیان موقت برای تولید واکسن گیاهی به منظور مقابله با ویروس‌های Norwalk و هاری، انواعی از آنفلوانزا، هپاتیت، پاپیلوما، ایدز، ابولا و مالاریا و برخی بیماری‌های باکتریایی استفاده شده‌است. ۶ ماه یا بیشتر برای تولید مقادیر کافی واکسن آنفلوانزا با استفاده از تخم‌مرغ برای پاسخگویی به تقاضای جهانی نیاز است، اما دستیابی به همین واکسن در گیاهان طی چند هفته قابل دستیابی است. همچنین محققان شرکت Medicago کانادا و Fraunhofer CMB در Newark, Delaware، در تولید واکسن علیه یک سویه ویروس آنفلوانزا با استفاده از این روش به موفقیت چشمگیر تولید واکسن در حد گرم طی ۱ ماه پس از جداسازی توالی هماگلوتینین دست یافتند (Lobato et al., 2021; Wang & Ma, 2012). استراتژی‌های جدید تولید واکسن‌های گیاهی ارائه شده توسط بیوتکنولوژی گیاهی برای مبارزه با بیماری‌های اپی-دمیک و پاندمیک مانند آنفولانزای A H1N1، آنفلوانزای H5N1، طاعون، ابولا، زیکا، SARS-CoV و SARS-Cov-2 در حال گسترش هستند. واکسن‌های گیاهی توسعه‌یافته برای بیماری‌های دنیاگیر و همه‌گیر در جدول ۶ آورده شده است (Meriç et al., 2021).

واکسن‌های گیاهی نه تنها برای مقابله با پاتوژن‌های خارجی بلکه برای مقابله با سرطان هم تولید شده‌اند. برای مثال در سرطان لنفوم سلول‌های B یک ایمنوگلوبولین سطحی منحصر به فرد بیان می‌کنند که یک نشانگر اختصاصی تومور است و واکسیناسیون بیماران با این ایمنوگلوبولین اغلب به یک نتیجه بالینی مفید می‌رسد. این واکسن‌ها در برابر قرارگیری در معرض لنفوم کشنده، ایمنی ایجاد می‌کنند. در اینجا مزیت استفاده از گیاهان مصرف

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

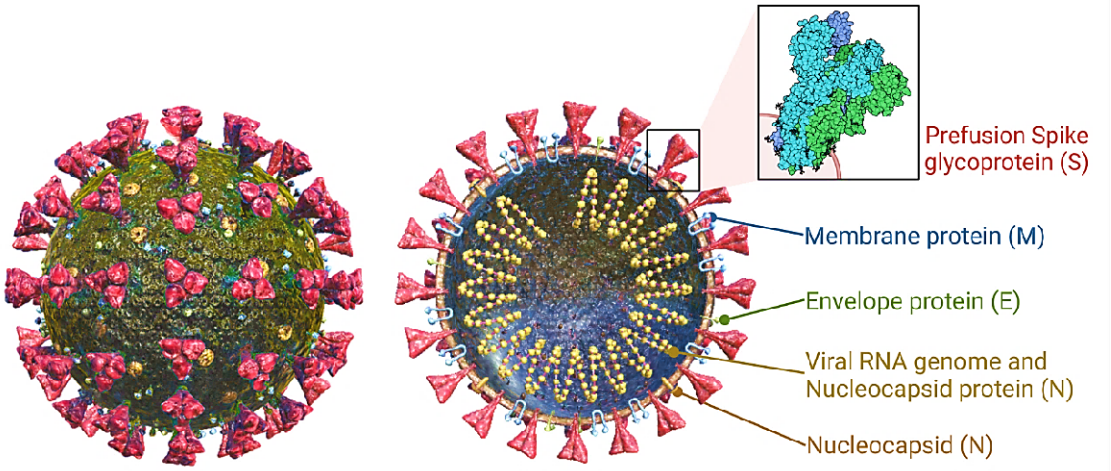
خوراکی آن‌ها به جای تزریق نیست، بلکه تولید سریع آن‌ها است که امکان ساخت واکسن اختصاصی را برای درمان بیماری لنفوم سلول B با استفاده از بیان موقت فراهم می‌کند. حداقل ۱۲ واکسن از این دست در آزمایشات فاز دوم آزمایش شده‌اند (Wang & Ma, 2012).

۲. واکسن‌های گیاهی با کاربردهای دامپزشکی

پیشرفت واکسن‌های گیاهی با کاربردهای دامپزشکی آنها علاوه‌بر کمک به صنعت دامپروری، به مطالعه روی حیوانات مدل نیز کمک می‌کند. واکسن بیماری نیوکاسل برای طیور اولین واکسن گیاهی بود که توسط گیاه تراریخته تولید شد و مورد تأیید قرار گرفت. همچنین واکسن‌های گیاهی در این حوزه به منظور مقابله با پارووویروس سگی و بیماری پا و دهان و بیماری خونریزی خرگوشی تولید شده‌اند (Wang & Ma, 2012).

تولید واکسن گیاهی به منظور مقابله با COVID-19

ظهور سویه‌های ویروسی جدید، تهدیدی همیشگی برای سلامت افراد جهان بوده است که جدیدترین نمونه آن سویه جدید ویروس کرونا است. وضعیت کنونی این اپیدمی، اهمیت تولید سریع واکسن‌های پایدار ارزان قیمت را که به خنک‌کننده‌ها به منظور نگه‌داری و حمل و نقل نیاز ندارند، بیش از پیش نشان می‌دهد (Venkataraman et al., 2021). از طرفی ظهور سندرم حاد تنفسی SARS-CoV-2 استراتژی‌های مختلفی را برای تولید واکسن می‌طلبد (Zieneldien et al., 2021). در اکثر این استراتژی‌های تولید واکسن، نکته کلیدی که در نظر گرفته می‌شود این است که از آنجا که گلیکوپروتئین‌های اسپایک کروناویروس (S) باعث آغاز ورود ویروس به سلول‌ها می‌شوند، هدف اولیه خنثی‌سازی آنتی‌بادی‌ها در نظر گرفته می‌شوند (شکل ۲).



شکل ۲- ساختار ویروس SARS-CoV-2. ویروس از یک غشای پوششی مرتبط با پروتئین‌های ساختاری تشکیل می‌شود: پروتئین Spike (S) واسطه اتصال به گیرنده‌های سلول میزبان و هدفی حیاتی برای تولید آنتی‌بادی‌هایی است که قادر به خنثی کردن ویروس هستند. دایمر هماگلوتینین استراز (HE) به‌عنوان یک واسطه قوی برای اتصال و تخریب گیرنده‌های اسید سیالیک در سطح سلول میزبان عمل می‌کند. M یک گلیکوپروتئین غشایی است که برای تولید ویروس مهم است و E پروتئین پوششی است که به پروتئین M می‌چسبد تا پوشش ویروسی را تشکیل دهد. ساختار ویروس همچنین شامل پروتئین نوکلئوکپسید N است که همراه با RNA ژنومی، نوکلئوکپسید را تولید می‌کند (Rosales-Mendoza et al., 2020).

Figure 2. Structure of the SARS-CoV-2 virus. The virus is formed by an envelope membrane associated with the following structural proteins: spike protein (S), which mediates binding to the host cell receptors and is considered a critical target for the induction of antibodies capable of neutralizing the virus; hemagglutinin-esterase dimer (HE), which acts as a potent mediator of attachment and destruction of sialic acid receptors on the host cell surface; a membrane glycoprotein (M), which is important to generate the virus; and the envelope protein (E), which adheres to the M protein to form the viral envelope. The viral structure also comprises a nucleocapsid protein (N) that produces the nucleocapsid along with the RNA genome (Rosales-Mendoza et al., 2020).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

جدول ۶- واکسن‌های گیاهی که برای مقابله با بیماری‌های دنیاگیر و همه‌گیر ساخته شده‌اند (Meriç et al., 2021).

Table 6. Plant-based vaccines were developed for pandemic and epidemic diseases (Meriç et al., 2021).

میزان شیوع از نظر منطقه جغرافیایی	گیاه	پاتوژن/ بیماری	آنتی‌ژن	روش انتقال ژن	درصد کل پروتئین محلول یا میکروگرم آنتی ژن به ازای هر گرم زیست توده تازه	ادجوانت	روش ایمن‌سازی	پاسخ ایمنی
همه‌گیر	*Oryza sativa*	*Vibrio cholerae* / وبا	زیرواحد B سم وبا	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	اطلاعاتی در این مورد در دسترس نیست.	-	خوراکی/ ۱۵۰ میلی‌گرم دانه	IgG و IgA مخاطی
همه‌گیر	*Nicotiana benthamiana*	SARS-CoV	پروتئین نوکلئوکپسید SARS-CoV (rN)	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۰/۸- ۱ ٪ کل پروتئین محلول	ادجوانت کامل/ ناقص Freund	داخل صفاقی/۵۰۰ میلی‌گرم برگ تنباکو تازه	ترشح IgG1,2 / افزایش IFN-γ و IL-10 / بی تغییر در IL-2,4
دنیاگیر	*Nicotiana benthamiana*	Influenza A H1N1	پروتئین محلول H1/H1-VLP	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	اطلاعاتی در این مورد در دسترس نیست.	-	-	تحریک پاسخ سلول-Tهای CD4+ و CD8+
همه‌گیر	*Nicotiana benthamiana*	Influenza A H5N1	اکتودومین پروتئین ۲ ماتریکس (M2e) متصل به ناحیه غنی از پرولین انتهای آمینی متعلق به پروتئین γ- zein ذرت (®Zera)	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۱۲۵-۲۰۵ میلی-گرم به ازای هر کیلوگرم وزن توده تازه	-	عضلانی به میزان ۴/۵ میکروگرم	IgG
همه‌گیر	*Nicotiana tabacum/Lycopersicon esculentum*	*Yersinia pestis*/ طاعون	پروتئین اصلی کپسولی F1-V آنتی‌ژن	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	*Nicotiana tabacum*: ۱- ٪ ۴ وزن توده تازه *Lycopersicon esculentum*: ۴- ۱۰٪ وزن خشک	*Nicotiana tabacum*: آلومینیوم هیدروکسید *Lycopersicon esculentum*: سم وبا	*Nicotiana tabacum*: زیر جلدی (۱۰ میکروگرم خالص شده) *Lycopersicon esculentum*: خوراکی (۲ گرم میوه گوجه فرنگی)	IgG1 و IgG2a سرمی و IgA مخاطی
همه‌گیر	*Nicotiana benthamiana*	*Flavivirus*/ تب زرد (YF)	پروتئین پوششی ویروس YF (YFE) متصل به آنزیم باکتریایی لیکناز (YFE-LicKM)	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	اطلاعاتی در این مورد در دسترس نیست.	ژل آلومینیوم هیدروکسید	عضلانی 5 µg x3/ 5 µg x 2/ 30 µg x 3	IgG و افزایش IFN-γ
همه‌گیر	*Nicotiana tabacum*	ویروس ابولا (EBOV)	پروتئین پوششی VP40	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۲/۶ میکروگرم به ازای هر گرم وزن توده تازه	ادجوانت کامل/ناقص Freund	خوراکی (۲۵ نانوگرم) / زیر جلدی (۱۲۵ نانوگرم)	IgM و IgG و IgA روده
همه‌گیر	*Nicotiana benthamiana*	ویروس زیکا (ZIKV)	پروتئین پوششی (E)	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۱۶۰ میکروگرم به ازای هر گرم وزن توده تازه	ژل آلومینیوم هیدروکسید	زیر جلدی/ ۵۰ میکروگرم	IgG1 و IgG2 ، افزایش IFN-γ ، IL-4 و IL-6
دنیاگیر	*Nicotiana benthamiana*	SARS-CoV-2	آنتی‌بادی مونوکلونال اختصاصی اسپایک CR3022	با واسطه *Agrobacterium tumefaciens*	۱۳۰ میکروگرم به ازای هر گرم توده تازه	-	-	-

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

جدول ۷- فهرست واکسن‌های گیاهی علیه SARS-Cov-2 (از ۱۳ اوت ۲۰۲۱) (Shanmugaraj et al., 2021).

Table 7. List of vaccine candidates against SARS-CoV/CoV-2 produced in plants (updated 13 August 2021) (Shanmugaraj et al., 2021).

آنتی‌ژن موجود در واکسن	گیاه میزبان	فرمولاسیون و روش	ایمنی‌زایی	وضعیت
پروتئین SARS-CoV S1	بیان پایدار در گوجه فرنگی	۳ دوز با دو هفته فاصله بین هر دو دوز به صورت گوارشی	افزایش چشمگیر تیتر آنتی‌بادی اختصاصی علیه SARS-CoV پس از تزریق به موش	مطالعه پیش‌بالینی
پروتئین نوکلئوکپسیدی SARS-CoV	بیان موقت در *N. benthamiana*	فرموله شده همراه با ادجوانت Freund و تزریق درون صفاقی ۴ دوز با فاصله دو هفته‌ای	قادر به القای ایمنی هومورال و سلول‌های تولیدکننده سیتوکین علیه SARS-CoV-2 در موش	مطالعه پیش‌بالینی
SARS-CoV S1 متصل به پروتئین GFP	بیان موقت در *N. benthamiana*	اطلاعاتی در این مورد در دسترس نیست.	اطلاعاتی در این مورد موجود نیست.	در مرحله تحقیقاتی
پروتئین‌های نوترکیب SARS-Cov N و SARS-CoV M	بیان موقت در *N. benthamiana*	اطلاعاتی در این مورد در دسترس نیست.	اطلاعاتی در این مورد موجود نیست.	در مرحله تحقیقاتی
پروتئین نوترکیب SARS-CoV-2 N	بیان موقت در *N. benthamiana*	اطلاعاتی در این مورد در دسترس نیست.	اطلاعاتی در این مورد موجود نیست.	در مرحله تحقیقاتی
پروتئین نوترکیب SARS-CoV-2 RBD	بیان موقت در *N. benthamiana*	اطلاعاتی در این مورد در دسترس نیست.	اطلاعاتی در این مورد موجود نیست.	در مرحله تحقیقاتی
واکسن KBP-201 COVID-19: واکسن بر مبنای SARS-CoV-2 RBD تولید شده توسط شرکت Kentucky BioProcessing (Owenboro, KY, USA)	بیان موقت در *N. benthamiana*	فرموله شده با ادجوانت CpG و تزریق عضلانی در روزهای اول و ۲۲	قادر به القای ایمنی اختصاصی علیه SARS-CoV-2 در آزمایشات پیش‌بالینی	در مرحله I/II ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04473690
واکسن IBIO-200: واکسن بر مبنای SARS-CoV-2 VLP توسعه داده شده توسط شرکت iBio (Bryan, TX, USA)	بیان موقت در *N. benthamiana*	تزریق عضلانی در روزهای اول و ۲۱	قادر به تحریک پاسخ ایمنی اختصاصی و آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده علیه SARS-CoV-2 در موش	مطالعات پیش‌بالینی
واکسن IBIO-201: واکسن subunit توسعه داده شده بر مبنای SARS-CoV-2 Spike توسط شرکت iBio (Bryan, TX, USA)	بیان موقت در *N. benthamiana*	فرموله شده با ادجوانت LicKM™ و به صورت تزریق عضلانی در روزهای اول و ۲۱	قادر به تحریک پاسخ ایمنی اختصاصی و آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده علیه SARS-CoV-2 در موش به میزانی بیش از IBIO-200	مطالعات پیش‌بالینی
واکسن IBIO-202: واکسن subunit پروتئین نوکلئوکپسید SARS-CoV-2 توسعه داده شده توسط شرکت iBio (Bryan, TX, USA)	بیان موقت در *N. benthamiana*	اطلاعاتی در این مورد در دسترس نیست.	قادر به القای پاسخ قوی و اختصاصی سلول‌های T خاطره	مطالعات پیش‌بالینی
واکسن مبتنی بر SARS-CoV-2 VLP توسعه داده شده توسط شرکت Medicago (Quebec, QC, Canada)	بیان موقت در *N. benthamiana*	تزریق عضلانی با ۲۱ روز فاصله	قادر به القای پاسخ آنتی‌بادی در داوطلبان با دو دوز تزریق	در مرحله II/III ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04636697
واکسن subunit به نام Baiya SARS-CoV-2 Vax 1 توسعه داده شده توسط شرکت انحصاری Phytopharm (Bangkok, Thailand)	بیان موقت در *N. benthamiana*	فرموله شده با ادجوانت آلوم و تزریق عضلانی در روزهای اول و ۲۱	قادر به القای اختصاصی IgG و پاسخ‌های خنثی‌کننده و ایمنی سلولی در موش و نخستی‌های غیرانسانی	مطالعات پیش‌بالینی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

بنابراین در اکثر این استراتژی‌های تولید واکسن هدف ارائه این پروتئین به سیستم ایمنی میزبان بوده‌است (Rosales-Mendoza et al., 2020). به همین دلیل گیاهان بستر مناسبی برای تولید واکسن SARS-CoV-2 فراهم می‌کنند (Venkataraman et al., 2021). شیوع COVID-19 منجر به واکنش بسیار مهمی از سوی جامعه کشاورزی مولکولی شد که تا حدی منعکس‌کننده گسترش سریع بیماری و نیاز به پاسخ‌های فوری بود و تا حدی منعکس‌کننده رشد بیان موقت مبتنی بر گیاه به‌عنوان یک روش تولید واکسن در مقیاس بزرگ بود. از زمانی که توالی ویروس SARS-CoV-2 در اوایل سال ۲۰۲۰ در دسترس عموم قرار گرفت، تلاش‌های قابل توجهی توسط جامعه کشاورزی مولکولی گیاهی برای ایجاد واکسن‌های نوترکیب علیه SARS-CoV-2 انجام شده است (جدول ۷) (Shanmugaraj et al., 2021). سازمان بهداشت جهانی ۱۸۴ واکسن مختلف COVID-19 را در مطالعات پیش بالینی فهرست کرده است که از جمله آنها، سه واکسن گیاهی هستند (Maharjan & Choe, 2021). واکسن‌های گیاهی که علیه بیماری COVID-19 نیز ساخته شده‌اند بیشتر مبتنی بر VLP هستند و دو شرکت آنها را به تأیید بالینی رسانده‌اند. Medicago و Kentucky BioProcessing Inc، در آزمایشات بالینی فاز ۳ و چندین واکسن گیاهی دیگر مبتنی بر زیرواحدهای پروتئینی در مرحله پیش بالینی قرار دارند (Venkataraman et al., 2021; Maharjan & Choe, 2021). شرکت کانادایی Medicago در توسعه واکسن گیاهی به منظور مقابله با SARS-CoV-2 پیشگام است که از VLPهای آنفولانزای گیاهی، برای تولید واکسن SARS-CoV-2 استفاده کرده است. آنها VLPهای SARS-CoV-2 را با قرار دادن توالی ژنی پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 در *Agrobacterium* و آلوده کردن گیاه *N. benthamiana* به آن تولید کردند. در نتیجه این گیاهان VLPهای SARS-CoV-2 متشکل از پروتئین اسپایک و غشای لیپیدی گیاهی تولید می‌کردند (Venkataraman et al., 2021). شرکت British American Tobacco با شرکت تابعه بیوتکنولوژی خود در ایالات متحده، Kentucky Bio Processing (KBP) در مرحله نهایی توسعه واکسن گیاهی برای COVID-19 است (Sharma et al., 2021).

چالش‌های واکسن‌های گیاهی

از اولین ایده بیان واکسن‌ها در اندام‌های خوراکی گیاهی مانند موز و سیب زمینی، کارهای زیادی در زمینه تولید پروتئین‌های نوترکیب در گیاهان انجام شده است. شاید چالش اصلی برای توسعه واکسن‌های گیاهی COVID-19، آزمایش اثربخشی آن‌ها در آزمایش‌های بالینی بزرگ برای تأیید ایمنی و در عین حال نظارت بر تولید آنها باشد (Rosales-Mendoza et al., 2020).

برخی مشکلات اصلی که قبل از اینکه واکسن‌های خوراکی به واقعیت تبدیل شوند، باید برطرف شوند عبارتند از:

۱- میوه‌های تراریخته یا بافت برگی ممکن است عمر کوتاهی داشته باشند یا نیازمند استخراج و فرآیند خالص‌سازی آنتی‌ژن باشند. این موضوع یکی از مهم‌ترین چالش‌های تولید واکسن‌های گیاهی است. در حالی‌که بیان در دانه غلات و حبوبات، هم تاخوردگی صحیح پروتئین را به دلیل حضور چاپرون‌ها و ایزومرهای دی‌سولفید سبب می‌شود و هم این اجازه را می‌دهد که برای مدت طولانی ذخیره شوند که باعث کاهش نیاز به ذخیره‌سازی در سرما می‌شود (Zaer & Kolivand, 2019).

۲- نمی‌توان پروتئین‌های دارویی را در محصولات غذایی تولید و آنها را مصرف کرد، زیرا خطر آلودگی مواد غذایی وجود دارد. بنابراین بیان پروتئین کایمریک باید طوری تنظیم شود که از ورود ناخواسته ژن به سایر گونه‌های گیاهی یا زنجیره غذایی مصرف‌کنندگان جلوگیری کند. البته مهارکننده‌های فیزیکی در محصولات تراریخته مثل انتقال ژن به کلروپلاست، تکثیر رویشی، مهار گرده افشانی و استراتژی‌های ساده و طبیعی در حبوبات و دانه غلات، از ورود ژن تراریخته جلوگیری می‌کند (Wang & Ma, 2012; Zaer & Kolivand, 2019).

۳- محصولات تراریخته به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر مسائل مربوط به ایمنی زیست‌محیطی، اخلاقی و اجتماعی تأثیرگذار هستند؛ بنابراین لازم است استانداردسازی و نظارت لازم صورت بگیرد (Zaer & Koolivand, 2019).

۴- یکی از بحث‌های اصلی تولید واکسن‌های گیاهی این است که به دلیل تنوع میزان بیان بین گیاهان، بین بافت‌های مختلف گیاه و یا بیان متغیر در همان گیاه بسته به شرایط فیزیولوژیکی هر گیاه و یا حتی شرایط متغیر محیطی، نیاز است محصولات خالص‌شده و با کیفیت به جای محصولات گیاهی خام که دوز دقیق مواد دارویی در آنها معلوم نیست، مصرف شوند. این موضوع باعث می‌شود که تعیین و تولید دوز مناسب واکسن‌های گیاهی در مقیاس انبوه منجر به روبرو شدن با همان چالش‌های تخلیص، حمل و نقل، هزینه، آزمایشات پیش‌بالینی و بالینی و ... که در تولید سایر واکسن‌ها هم وجود دارد، شود (Wang & Ma, 2012).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

در نهایت می‌توان مزایا و معایب واکسن‌های گیاهی را به صورت جدول ۸ نشان داد.

آینده واکسن‌های گیاهی

واکسیناسیون گیاهی در حال پیشرفت است. نوآوری‌ها در پلتفرم‌های بیوتکنولوژی گیاهی با استفاده از ابزارهای ایمونوانفورماتیک، روش‌های مهندسی ژنتیک و استراتژی‌های تولید واکسن نوترکیب با بازده بالا انجام شده است. در مرحله بعد، پیش‌بینی می‌شود که ابزارهای مهندسی ژنتیک را می‌توان برای افزایش بازده بیان پروتئین، با تمرکز بر نانوذرات آلی VLP برای مبارزه با بیماری‌های ویروسی بهبود بخشید و با توجه به اینکه صنعت درگیر چالش کنونی همه‌گیری است و واکسن گیاهی علیه COVID-19 در حال حاضر در دسترس است، سرمایه‌گذاری جدید برای این پلتفرم بیوتکنولوژیکی می‌تواند در سال‌های بعد گسترش یابد (Monreal-Escalante et al., 2022). با توجه به توسعه روزافزون داروهای گیاهی، آژانس‌های نظارتی باید دانش خود را در مورد این فناوری نوظهور افزایش دهند و مطابق با آن سازگار شوند. اینکه آیا کشورهای در حال توسعه از مزایای فناوری‌های گیاهی کارآمد و کم‌هزینه در مبارزه با بیماری COVID-19 بهره‌مند خواهند شد، در ماه‌های آینده آشکار خواهد شد (Venkataraman et al., 2021). گیاهان تنباکو، حبوبات، سبزیجات و غلات می‌توانند در بسیاری از محیط‌ها رشد کنند، بنابراین محصولات آنها، می‌تواند با استفاده از زیرساخت‌های محلی تولید شوند که این همان شبکه توزیعی است که درحال حاضر برای غذاها و دانه‌های غلات، بدون نیاز به خنک‌کننده‌ها، وجود دارد. این رویکرد در پروژه EU Pharma-Planta برای برنامه‌های بشردوستانه در زمینه پیشگیری از HIV بنیان‌گذاری شد (Ma et al., 2015). اکنون این فرصت وجود دارد که نه‌تنها به مهار و ریشه‌کنی همه‌گیری فعلی COVID-19 کمک شود، بلکه راه‌حلی سریع و هدفمند به همه‌گیری‌های آینده ایجاد شود (Iranbakhsh, 2021).

جدول ۸- مزایا و معایب واکسن‌های گیاهی (Franconi et al., 2010; Jelaska et al., 2022; Khan et al., 2019; Laere et al., 2016; S J Streatfield, 2005; Stephen J Streatfield et al., 2001; Shahid & Daniell, 2016).

Table 8. Advantages and Disadvantages of Herbal Vaccines (Franconi et al., 2010; Jelaska et al., 2022; Khan et al., 2019; Laere et al., 2016; S J Streatfield, 2005; Stephen J Streatfield et al., 2001; Shahid & Daniell, 2016).

مزایا	معایب
فرآیند تولید واکسن گیاهی نسبت به واکسن‌های سنتی ایمن‌تر است و کمتر به عوامل بیماری‌زای انسانی (از جمله اندوتوکسین) آلوده می‌شود و نیازی به تصفیه و جداسازی سموم تولید شده توسط واکسن‌های میکروبی نیست.	امکان آلودگی به آلرژن‌های گیاهی و خطرات ناشی از انتقال واکسن‌های گیاهی به انسان یا حیوانات وجود دارد که علاوه‌بر خطرات بالینی مانند واکنش‌های آلرژیک، غیراخلاقی هم هست.
مقرون به صرفه (بدون نیاز به تصفیه و تزریق برای واکسن‌های گیاهی خوراکی مانند واکسن برنج)	گیاهان موجودات زنده‌ای هستند که در طول زمان تغییر می‌کنند، بنابراین هیچ تضمینی برای ادامه تولید واکسن با همان کیفیت قبل در طول زمان وجود ندارد و به همین دلیل نیاز است محصول مدام از نظر کنترل کیفی پایش شود.
عدم نیاز به یخچال در هنگام حمل و نگهداری واکسن‌های تولید شده	دوز واکسن‌های گیاهی بسته به پارامترهای مختلف (از جمله تفاوت در بیان)، متفاوت است. (به‌عنوان مثال، میوه‌های با اندازه‌های مختلف دارای دوزهای متفاوت واکسن هستند)
مقاوم در برابر هضم آنزیمی (در دستگاه گوارش به دلیل داشتن دیواره سلولی بافت گیاهی سالم به روده می‌رسد و بنابراین می‌توان به جای تزریق از آن به صورت خوراکی استفاده کرد.)	محصولاتی مانند سیب‌زمینی به صورت خام مصرف نمی‌شوند و از طرفی پختن غذا ممکن است آنتی‌ژن واکسن موجود در آن را تخریب و تضعیف کند.
گیاهان پروتئین‌هایی با پیچیدگی‌ها و الگوهای گلیکوزیلاسیون متفاوت با کارایی بالا بیان می‌کنند.	این احتمال وجود دارد که فرد نتواند طعم واکسن خوراکی گیاهی را تحمل کند.
قابلیت تولید در کشورهای جهان سوم	انتخاب بهترین گیاه و بهترین روش برای تولید هر نوع واکسن گیاهی به عوامل مختلفی بستگی دارد که بررسی همه این عوامل از دشواری‌های این روش است.
تولید آسان و سریع در مقیاس وسیع صنعتی	این روش برای استفاده همه افراد مناسب نیست. برای مثال این روش برای نوزادان مناسب نیست.
تولید واکسن‌های گیاهی به‌طور معمول زمان کمتری نسبت به واکسن‌های مبتنی بر تخم‌مرغ یا کشت سلول پستانداران نیاز دارد. (شرکتی به نام Medicago واکسن‌های گیاهی را طی ۵ تا ۶ هفته تولید می‌کند که در مقایسه با تولید واکسن‌های مبتنی بر سلول پستانداران یا تخم‌مرغ که حدود ۴ تا ۶ ماه طول می‌کشد، قابل‌توجه است.)	
قادر به فعال کردن سیستم ایمنی مخاطی و سیستمیک	
می‌توان آنتی‌ژن واکسن را برای مدت طولانی در بافت یا دانه گیاه خشک‌شده ذخیره کرد.	

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

به‌طور کلی، واکسن‌های گیاهی بی‌خطر هستند و خواص ایمنی‌زایی آن‌ها با استفاده از سنجش‌های آزمایشگاهی با سلول‌های انسان و موش راضی‌کننده ارزیابی شده است. کارآزمایی‌های انجام‌شده روی داوطلبان، ایمنی‌زایی مناسب را بدون عوارض جانبی جدی نشان داد (جدول ۴) (Rosales-Mendoza et al., 2020).

نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد واکسن‌های گیاهی نسبت به سایر انواع واکسن و روش‌های تولیدی مقرون به‌صرفه‌تر هستند و می‌توانند در مقادیر زیاد تولید شوند (Shahid & Daniell, 2016). این امکان وجود دارد که واکسن‌های VLP ارزان گیاهی بتوانند شانس قرار گرفتن در برنامه ایمن‌سازی کشورها را داشته باشند یا حداقل هزینه واکسیناسیون را برای عموم مردم کشورهای توسعه نیافته کاهش دهند (Hefferon, 2014).

همچنین با توجه به امکان خشک کردن انجمادی (Lyophilization) سلول‌های گیاهی بیان‌کننده آنتی‌ژن‌های واکسن یا داروهای زیستی (Bio-drugs)، می‌توان آنها را در دمای محیط برای سال‌ها ذخیره کرد تا اثربخشی داروهای پروتئینی بیان شده حفظ شود. به جز هزینه کمتر، تولید واکسن گیاهی مزایای متعددی نسبت به سایر سیستم‌های تولید واکسن پروکاریوتی و یوکاریوتی دارد. پروتئین‌های تولید شده در گیاه، بسیار شبیه پروتئین‌های نوترکیب تولید شده در یوکاریوت‌ها هستند. زیرا پروتئین‌ها در گیاهان می‌توانند دچار اصلاحات پس از ترجمه شوند. همچنین واکسن‌های گیاهی به‌طور معمول عاری از سموم و پاتوژن‌هایی هستند که در باکتری‌ها و مخمرها تولید می‌شوند. بنابراین نسبت به واکسن تولیدشده با استفاده از پروکاریوت‌ها و مخمرها ایمن‌تر هستند. همچنین واکسن‌های گیاهی پتانسیل ایجاد پاسخ ایمنی مخاطی و سیستمیک را بدون درد و خطر ناشی از تزریق دارند (Shahid & Daniell, 2016). با توجه به اینکه یک محصول دارویی گیاهی قرار است به صورت نیمه فرآوری‌شده (مانند پوره سیب‌زمینی یا رب گوجه‌فرنگی) به‌عنوان واکسن مصرف شود، مهم است که بررسی‌های نظارتی خاصی که برای واکسن‌های تزریقی اعمال می‌شود، برای این محصولات نیز اعمال شود تا عوارض مصرف آن‌ها از نظر بالینی بررسی شود (Wang & Ma, 2012). در این‌صورت واکسن‌های خوراکی ممکن است بر مشکلات تولید، توزیع و تحویل که در ارتباط با واکسن‌های سنتی است، غلبه کنند. از این‌رو جامعه پزشکی تمایل زیادی به تولید پروتئین‌های نوترکیب انسانی در گیاهان تراریخته نشان می‌دهند (Zaer & Kolivand, 2019). در پایان می‌توان گفت با وجود اینکه سال‌هاست بر روی واکسن‌های گیاهی پژوهش می‌شود، اما هنوز چالش‌های اساسی و مهم خود را دارد که برای گسترش تولید انبوه آن‌ها باید حل شود (Wang & Ma, 2012).

سپاسگزاری

از همکاری خانم دکتر حدادی و آقای دکتر کمال الدینی بسیار سپاسگزاریم.

REFERENCES

Chan, H.-T., Xiao, Y., Weldon, W.C., Oberste, S.M., Chumakov, K. & Daniell, H. 2016. Cold chain and virus-free chloroplast-made booster vaccine to confer immunity against different poliovirus serotypes. Plant Biotechnology Journal 14: 2190-2200. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/pbi.12575

Chincinska, I.A. 2021. Leaf infiltration in plant science: old method, new possibilities. Plant Methods 17: 83. https://doi.org/10.1186/s13007-021-00782-x

Fang, P.-Y., Gómez Ramos, L.M., Holguin, S.Y., Hsiao, C., Bowman, J.C., Yang, H.-W. & Williams, L.D. 2017. Functional RNAs: combined assembly and packaging in VLPs. Nucleic Acids Research 45: 3519-3527. https://doi.org/10.1093/nar/gkw1154

Franconi, R., Demurtas, O.C. & Massa, S. 2010. Plant-derived vaccines and other therapeutics produced in contained systems. Expert Review of Vaccines 9: 877-892. https://doi.org/10.1586/erv.10.91

Hefferon, K.L. 2014. Plant-derived pharmaceuticals: principles and applications for developing countries. In K.L. Hefferon, Plant-derived Pharmaceuticals: Principles and Applications for Developing Countries. Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI). https://doi.org/10.1079/9781780643434.0000

Iranbakhsh, A. 2021. Potential applications of Plant Biotechnology against SARS-CoV-2. Iranian Journal of Biology 4: 89-98.

Jelaska, S., Mihaljević, S. & Bauer, N. 2022. Production of Biopharmaceuticals, Antibodies and Edible Vaccines in Transgenic Plants. Current Studies of Biotechnology - Volume IV. - Immuno-Modulatory Drugs 121.

Khan, A., Khan, A., Khan, I., Shehzad, M.A., Ali, W., Muhammad, A. & Akif, M. 2019. A review on natural way of vaccination: Plant derived edible vaccines. Journal of Vaccines and Immunology 5: 18-21.

Laere, E., Ling, A.P.K., Wong, Y.P., Koh, R. Y., Mohd Lila, M. A. & Hussein, S. 2016. Plant-based vaccines: production and challenges. Journal of Botany.

LeBlanc, Z., Waterhouse, P. & Bally, J. 2020. Plant-based vaccines: the way ahead? Viruses 13: 5.

Lobato, M.G., Huang, X., Alvarez, D., He, W., Baysa, C., Zh, C., Armario-Najera, V., maya Blanco Perera, A., ro Cerda Bennasser, P., Saba-Mayora, A., Sobrino-Mengua, G., Va rg heese, A., Abranches, R., Alexand ra Abreu, I., Ba lamurugan, S., lph Bock, R., nesF Buye, J., lau da Cunha, N. B., Dan iell, H., ul Christou, P. 2021. Plant Biotechnology Journal agg Contributions of the international plant science community to the fight against human infectious diseases-part 1: epidemic and pandemic diseases. Plant Biotechnology Journal 19: 1901-1920. https://doi.org/10.1111/pb1

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]

Ma, J. K.-C., Drossard, J., Lewis, D., Altmann, F., Boyle, J., Christou, P., Cole, T., Dale, P., van Dolleweerd, C.J., Isitt, V., Katinger, D., Lobedan, M., Mertens, H., Paul, M. J., Rademacher, T., Sack, M., Hundleby, P.A.C., Stiegler, G., Stoger, E., … Fischer, R. 2015. Regulatory approval and a first-in-human phase I clinical trial of a monoclonal antibody produced in transgenic tobacco plants. Plant Biotechnology Journal 13: 1106-1120. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/pbi.12416

Maharjan, P.M. & Choe, S. 2021. Plant-Based COVID-19 Vaccines: Current Status, Design, and Development Strategies of Candidate Vaccines. Vaccines 9: 992. https://doi.org/10.3390/vaccines9090992

Mardanova, E.S., Blokhina, E.A., Tsybalova, L.M., Peyret, H., Lomonossoff, G.P. & Ravin, N.v. 2017. Efficient transient expression of recombinant proteins in plants by the novel pEff vector based on the genome of potato virus X. Frontiers in Plant Science 8. https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.00247/FULL

Meriç, S., Gümüş, T. & Ayan, A. 2021. Plant-based Vaccines: The Future of Preventive Healthcare? In Botany - Recent Advances and Applications. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.97861

Monreal-Escalante, E., Ramos-Vega, A., Angulo, C. & Bañuelos-Hernández, B. 2022. Plant-Based Vaccines: Antigen Design, Diversity, and Strategies for High Level Production. Vaccines 10: 100. https://doi.org/10.3390/vaccines10010100

Niknejad, A. 2018. Plant-based expression systems for protein and antimicrobial peptide production. Nova Biologica Reperta 5: 262-273. https://doi.org/10.29252/nbr.5.3.262

Rivera, A. L., Gómez-Lim, M., Fernández, F. & Loske, A. M. 2012. Physical methods for genetic plant transformation. Physics of Life Reviews 9: 308-345. https://doi.org/10.1016/j.plrev.2012.06.002

Rosales-Mendoza, S., Márquez-Escobar, V.A., González-Ortega, O., Nieto-Gómez, R. & Arévalo-Villalobos, J. I. 2020. What Does Plant-Based Vaccine Technology Offer to the Fight against COVID-19? Vaccines 8: 183. https://doi.org/10.3390/vaccines8020183

Rutkowska, D.A., Mokoena, N.B., Tsekoa, T.L., Dibakwane, V.S. & O'Kennedy, M.M. 2019. Plant-produced chimeric virus-like particles - a new generation vaccine against African horse sickness. BMC Veterinary Research 15: 432. https://doi.org/10.1186/s12917-019-2184-2

Rybicki, E.P. 2010. Plant-made vaccines for humans and animals. Plant Biotechnology Journal 8: 620-637. https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00507.x

Shahid, N. & Daniell, H. 2016. Plant-based oral vaccines against zoonotic and non-zoonotic diseases. Plant Biotechnology Journal: 2079-2099. https://doi.org/10.111

Shanmugaraj, B., Siriwattananon, K., Malla, A. & Phoolcharoen, W. 2021. Potential for Developing Plant-Derived Candidate Vaccines and Biologics against Emerging Coronavirus Infections. Pathogens 10: 1051. https://doi.org/10.3390/pathogens10081051

Sharma, S., Suvalka, C., Bharti, Joshi, M. & Bahuguna, A. 2021. Potential inhibitors and plant based technology: An alternative approach to treat coronavirus. Bioorganic Chemistry 117: 105460. https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105460

Shoeb, E. & Hefferon, K. 2019. Future of cancer immunotherapy using plant virus-based nanoparticles. Future Science OA 5. https://doi.org/10.2144/fsoa-2019-0001

Steele, J.F.C., Peyret, H., Saunders, K., Castells-Graells, R., Marsian, J., Meshcheriakova, Y. & Lomonossoff, G.P. 2017. Synthetic plant virology for nanobiotechnology and nanomedicine. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology 9: 1-18. https://doi.org/10.1002/wnan.1447

Streatfield, S.J. 2005. Plant-based vaccines for animal health. Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics) 24: 189-199.

Streatfield, S.J., Jilka, J.M., Hood, E.E., Turner, D.D., Bailey, M.R., Mayor, J.M., Woodard, S.L., Beifuss, K.K., Horn, M.E., Delaney, D.E., Tizard, I. R. & Howard, J.A. 2001. Plant-based vaccines: unique advantages. Vaccine, 19: 2742-2748. https://doi.org/10.1016/S0264-410X(00)00512-0

Venkataraman, S., Hefferon, K., Makhzoum, A. & Abouhaidar, M. 2021. Combating human viral diseases: Will plant-based vaccines be the answer? Vaccines 9: 761. https://doi.org/10.3390/vaccines9070761

Wang, A. & Ma, S. 2012. Molecular farming in plants: Recent advances and future prospects. In Molecular Farming in Plants: Recent Advances and Future Prospects. Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2217-0

Zaer, Z. & Kolivand, D. 2019. Application of Plant Viruses as Vectors for the Production of Edible Vaccines in Plants.

Zieneldien, T., Kim, J., Cao, J. & Cao, C. 2021. Covid-19 vaccines: Current conditions and future prospects. Biology 10. https://doi.org/10.3390/biology10100960.

*****

How to cite this article:

Niknejad, A., Shafizadeh EsfandAbadi, A., Abdollahi Sarvestani, F. 2023. Plant-based vaccines production and conducted experiments in this case, as an effective strategy to combat infectious diseases, such as coronavirus disease (COVID-19). Nova Biologica Reperta 10: 17-32. (In Persian).

نیک‌نژاد، آ.، شفیع‌زاده اسفندآبادی، ع.، عبدالهی سروستانی، ف. ۱۴۰۲.تولید واکسن‌های گیاهی و آزمایش‌های انجام شده در این مورد به عنوان راهبردی مؤثر جهت مقابله با بیماری‌های عفونی از جمله کووید ۱۹. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۰: ۳۲-۱۷.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1402.10.1.3.6]