ادجوان ویژه واکسن‌های خوراکی و نقش آن در پدافند غیر عامل

حسین هنری[۱]

تاریخ دریافت: ۹۰/۰۱/۲۲
تاریخ پذیرش: ۹۰/۰۶/۰۷

چکیده

یکی از تهدیدات احتمالی در حوزه غیرنظامی، امنیت غذا و جان انسان بوده و هدف اصلی دشمن، تحمیل زیان جانی و اقتصادی است. بهداشت عمومی و راه‌های پیشگیری و به حداقل رسانیدن زیان‌های انسانی و مالی از ماموریت‌های پدافند غیر عامل کشور می‌باشد. در دنیا دانش واکسن‌ها برای پیشگیری از خسارت انسانی و دامی به‌وجود آمده است. یکی از راه‌های ایمنی‌زایی در بدن، مصرف واکسن‌های خوراکی است. تمایل جوامع بشری برای مصرف واکسن و داروها به‌صورت خوراکی است که امروزه مطالعات زیادی به منظور استفاده بهینه از واکسن خوراکی در سراسر جهان انجام می‌شود. به‌منظور تقویت اثر واکسن‌های خوراکی دانشمندان توجه خاصی به یاورها دارند. تعدادی از یاورهای مهمی که توجه محققان را به خود جلب کرده است گروهی از توکسین‌های دو زیرواحدی [کلاس A B] است که منشأ باکتریایی یا گیاهی دارند. این توکسین‌ها کاربردهای دیگری نیز دارند و در اکثر موارد به عنوان انتقال‌دهنده به کار می‌روند. در این مطالعه ساختار ژن، پروتئین، گیرنده‌ها، کارهای انجام شده برروی ژن‌ها، استفاده آن‌ها جهت توسعه واکسن‌های خوراکی و نقش آن‌ها در پدافند غیر عامل مورد بررسی قرار گرفته است.

کلیدواژه‌ها: پدافند غیر عامل، واکسن‌های خوراکی، یاورها و انتقال‌دهنده‌ها

۱- استادیار گروه علوم زیستی دانشکده علوم پایه- دانشگاه جامع امام حسین(ع)، Email: honari.hosein@gmail.com

مقدمه

افزایش شناخت بشر از موجودات زنده و فرایندهای زیستی توانمندی‌های نوینی را در اختیار انسان قرار داده است که کاربردهای گسترده‌ای دارند. استفاده از کنش و واکنش‌های غریزی موجودات زنده در عرصه‌های مختلف زندگی بشر باعث گردیده سازمانی تحت عنوان پدافند غیر عامل در کشورها به‌وجود آید. هر اقدام غیر مسلحانه‌ای که موجب کاهش آسیب‌پذیری نیروی انسانی، ساختمان‌ها، تاسیسات، تجهیزات، اسناد و شریان‌های کشور در مقابل عملیات خصمانه و مخرب دشمن گردد، پدافند غیرعامل خوانده می‌شود. اصول، روش‌ها و موضوعات اساسی در مبحث پدافند غیرعامل .اختفا، استتار، قابلیت بقا، استحکامات، پوشش، ایجاد سازه‌های امن و مقاوم‌سازی، پراکندگی، .تفرقه، فریب و اختلال، دسترسی‌ها، موانع، سیستم‌های ردیابی و اعلام خبر خطر، آموزش و فرهنگ‌سازی، پناهگاه‌ها و جان پناه .پدافند در مقابل حملات ویژه [شیمیایی، میکروبی، هسته‌ای]، آمایش دفاعی، سلاح شناسی، .مکان‌یابی .دفاع غیرنظامی، .استحکامات، مراکزحیاتی و .تهدیدات بوده که بر گرفته از رفتارهای غریزی جانداران مختلف می‌باشد.

بشر امروزی با همت والای خود برای استفاده از طبیعت از ساده ترین وسایل و راهکارها کمک می‌گیرد و به مدد دانش فناوری در مسیر تسخیر روز افزون جهان طبیعت با سرعتی بسیار زیاد می‌شتابد. دانش واکسن از دیر باز به خدمت سلامت بشر و حیوانات همت گماشت و علاوه بر پیشگیری و درمان بیماری‌های مسری، در عرصه بهره‌گیری بهتر از طبیعت به ویژه تغذیه انسان و.... خوش درخشید و در دهه‌های اخیر به‌وجود آمدن بیوتکنولوژی نوین، انسان را قادر ساخت تا از میگروارگانیسم‌ها و یوکاریوت‌ها با برنامه‌ریزی، دقت و سرعت به‌نحو دلخواه بهره گیرد و افق‌های جدیدی در حوزه سلامت و بهداشت عمومی بگشاید. در بهداشت عمومی سه اصل: ۱) اقدامات قبل از وقوع اتفاق مانند ساختن پناهگاه، واکسیناسیون، آموزش مردم و....، ۲) اقدامات در هنگام اتفاق و ۳) اقدامات بعد از اتفاق برای به حداقل رساندن صدمات و خسارت ناشی از وقوع اتفاق وجود دارد. دانش واکسن می‌تواند در خدمت رفع نیازهای بهداشتی، درمانی و اقتصادی انسان‌ها قرار گیرد که خوشبختانه تا حد زیادی این امر تحقق یافته است. از بین رفتن جمعیت انسان‌ها و دام‌ها و نباتات یک کشور از اهداف اساسی دشمن محسوب شده و ضررهای اقتصادی زیادی را به کشور می‌تواند تحمیل کند. با ابتلاء حیوانات، خطرات انتقال بیماری به انسان وجود دارد که خسارات اقتصادی سنگین، از بین رفتن منبع تغذیه انسانی و اشاعه بیماری‌ها از عوارض آن خواهد بود. این عوارض، از طریق وارد کردن یا حمل و نقل دام‌ها از مرزهای کشور به خصوص مرزهای خاکی و نیز قاچاق محصولات دامی انتقال می‌یابد. آلوده‌سازی آب و خوراک مصرفی از طریق دام‌ها و سوء استفاده از واکسن‌ها، دارو و بعضی مواد خوراک دام و طیور و آبزیان که از کشورهای خارج وارد می‌گردد نیز مطرح است. سوء استفاده از حیوانات برای سرایت دادن آلودگی به انسان، سبب گسترش دامنه جنگ و ایجاد خسارات زیاد و گاه غیر قابل جبران در درازمدت خواهد بود. انتقال عوامل میکروبی از طریق حیوانات وحشی و اهلی به انسان می‌تواند بیماری‌هایی همانند طاعون، تولارمی، تب کریمه، شاربن، تب مالت و... ایجاد نماید. با توجه به گسترش مرزهای کشور و عدم امکان قرنطینه جامع، همواره امکان انتقال حیوانات آلوده از خارج از مرزهای کشور وجود دارد و مسئله قاچاق و انگیزه‌های سودجویانه و ضعف آلودگی‌زدایی از حیوانات مشکل است و مستلزم زمان و امکانات بسیار می‌باشد.

نقش گروه پدافند غیر عامل دامپزشکی کشور در تهدید سلامت انسان و دام‌ها بسیار کلیدی است. دامپزشکی در خدمت بهداشت عمومی بوده و در عرصه‌های گوناگون پیشگیری و کنترل از طریق واکسینه کردن دامها، تشخیص و درمان بیماری‌ها بازیگر اصلی است. با توجه به تنوع و اهمیت عوامل عفونی مشترک انسان و حیوانات و امکان سوء استفاده از آنها علیه جمعیت‌های انسانی، نقش گروه پدافند غیرعامل دامپزشکی کشور حائز اهمیت است.

در عرصه تحقیقات، تکوین روش‌های تشخیص سریع عوامل میکروبی، تحقیق در زمینه‌های پیشگیری و تکوین واکسن‌های مناسب، تحقیق در زمینه روش‌های درمانی، عرصه امور اجرایی، داشتن بانک اطلاعاتی بیماری‌های مختلف انسانی و حیوانی و گیاهی، ایجاد سیستم‌های مراقبتی مستمر برای بیماری‌های مهم، ایجاد سیستم قرنطینه‌های کارآمد، تدارک سیستم کارآمد برای مقابله احتمالی در موارد ضرورت، تلاش برای قطع وابستگی غذایی به بیگانگان، اعمال برنامه پیشگیری در مورد بیماری‌های مهم و ایجاد هماهنگی لازم با دستگاه‌های بهداشتی

و درمانی کشور و نیز نهادهای دیگر یک ضروت برای گروه پدافند غیر عامل دامپزشکی کشور می‌باشد. بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک از علوم نوینی هستند که در دو دهه گذشته توانمندی‌های خود را در عرصه‌های مختلف زندگی بشر به‌ویژه در زمینه پدافند غیر عامل به اثبات رسانده‌اند. استفاده از تکنولوژی‌های برتر، کشور را در مقابله با تهدات خارجی ایمن خواهد نمود.

امروزه مرز مشخصی بین تحقیقات دفاعی بیولوژیک و تحقیقات تهاجمی بیولوژیک وجود ندارد. تحقیق در زمینه روش‌های پیشگیری و تکوین واکسن‌های مناسب حیطه‌ای است که می‌تواند خدمات ارزشمندی را ارائه دهد. بهره‌گیری شایسته از مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی جهت ساخت واکسن‌های مختلف و به‌خصوص واکسن‌های خوراکی، یک ضرورت غیر قابل انکار است. قابلیت بقا و توانائی نیروهای مسلح و جوامع غیرنظامی یک کشور به نحوی که در مقابل حمله استقامت کنند و ضمن تحمل آن قادر باشند به‌نحو مؤثری به وظایف محوله خود عمل نمایند. این توانایی عمدتاً در نتیجه دفاع عامل و غیرعامل به‌دست می‌آید. برای ایجاد استقامت و ایمنی در مقابل عوامل بیولوژیک، استفاده از واکسن‌ها و داروهای نوترکیب برای پیشگیری یک ضرورت بوده که در صورت استفاده گسترده از واکسن‌ها برای جوامع نظامی و غیر نظامی، واکسن‌های خوراکی از جایگاه خاصی برخوردارند.

استفاده از گیاهان با اهداف داروئی به هزاران سال پیش برمی‌گردد، اما بهره‌برداری از گیاهان با استفاده از تکنیک مهندسی ژنتیک به منظور تولید داروهای بیولوژیک و نوترکیب موضوع جدیدی می‌باشد. با توجه به نیاز روزافزون به تولید پروتئین‌های نوترکیب، سیستمی که بتواند این پروتئین‌های نوترکیب را با بازده بالاتر و هزینه کمتر تولید نماید، ارجحیت دارد[۱]. رایج‌ترین و قدیمی‌ترین روش تولید پروتئین‌های نوترکیب، سیستم‌های بیان باکتریایی، مخمر و لیشمانیا می‌باشند. تولید داروهای زیستی در گیاهان و به عبارتی دیگر استفاده از گیاه به عنوان کارخانه زیستی تولید پروتئین‌های نوترکیب یا همان کشاورزی مولکولی [Molecular Farming] یکی از جدیدترین راهبردها می‌باشد. از بین سیستم‌های مختلف تولید پروتئین‌های نوترکیب، سیستم بیان گیاهی بیش از سایر سیستم‌های تولید، امیدوارکننده به نظر می‌رسد. این روش دارای مزایای بالقوه متعددی از جمله اقتصادی‌تر بودن سیستم‌های بیان گیاهی نسبت به سایر سیستم‌های تخمیری و بیوراکتورها، امکان تولید انبوه، امکان استفاده خوراکی از گیاهان، امکان بیان پروتئین مورد نظر در قسمت خاصی از گیاه و یا در اندامک خاصی از سلول، عدم آلودگی محصول پروتئینی با پاتوژن‌هایی نظیر HIV، HSV و یا سموم بالقوه خطرناک می‌باشد. اگر چه امروزه تراریختی هسته‌ای سلول‌های گیاهی در بسیاری از گونه‌ها به صورت متداول انجام می‌گیرد، ولی این نوع بیان ژن دارای نقایص متعددی می‌باشد که از آن جمله می‌توان به حجم کم پروتئین تولید شده در هر گیاه و زمان طولانی رشد گیاه اشاره کرد. انتقال ژن هدف به پلاستید دارای مزایای بالقوه متعددی است که بیان همزمان چندین ژن انتقال یافته که فرصتی برای تولید واکسن‌های چند بنیادی (multivalent) را فقط با یک بار تراریخت نمودن کلروپلاست فراهم می‌کند و پروتئین‌های خارجی سنتز شده در کلروپلاست با تغییرات لازم پس از ترجمه مانند پیوندهای دی سولفید و اضافه شدن چربی ها، ساختار فعال پیدا می‌کنند[۱]. به‌عنوان مثال از یک جریب زمین می‌توان ۳۵۰ میلیون دوز واکسن علیه باکتری باسیلوس آنتراسیس در گیاه توتون تولید کرد[۱]. به‌عنوان ماموریت پدافند غیر عامل برای پیشگیری و مقابله با بیماری‌های اندمیک، پاندمیک و یا در صورت تهدید احتمالی عوامل بیولوژیک می‌توان از واکسن‌های خوراکی استفاده کرد.

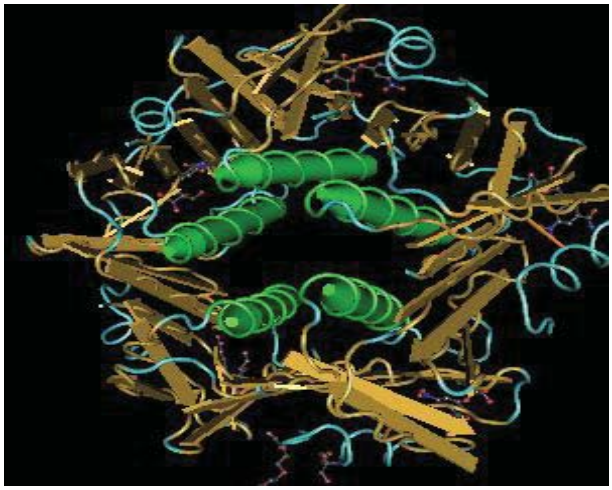
واکسن‌های خوراکی

یکی از راه‌های ایمنی‌زایی در بدن، مصرف واکسن‌های خوراکی است که امروزه مطالعات زیادی به منظور استفاده بهینه از واکسن در سراسر جهان انجام می‌شود. برای طراحی واکسن‌های خوراکی باید موضوعاتی همچون دوز خوراکی، پایداری در اسیدیته بالای معده، پایداری و مقابله با پروتئازهای دستگاه گوارشی، حلالیت واکسن‌ها در pH نزدیک به خنثی و نفوذپذیری از دیواره روده و غشای پایه و ورود به جریان خون را مد نظر داشت. پایدار سازی، هدایت و افزایش جذب واکسن‌های خوراکی به صورت تغییرات شیمیایی، مهار آنزیم‌های گوارشی و ازدیاد جذب گوارشی، سیستم‌های انتقال، جذب موکوسی و استفاده از میکروب‌های نوترکیب همزیست، ایده‌های مطرح در طراحی واکسن‌های خوراکی است. به منظور تقویت اثر واکسن‌های خوراکی و حصول موضوعات مطرح شده، دانشمندان توجه خاصی به یاورها دارند. تعدادی از ادجوان‌های

مهمی که توجه محققان را به خود جلب کرده است گروهی از توکسین‌های دو زیرواحدی [کلاس A B] است که منشأ باکتریایی یا گیاهی دارند. پروتئین‌های CTxB، STxB و LTB منشأ باکتریایی داشته و RTB منشأ گیاهی دارد که به ترتیب به مطالعه آنها می‌پردازیم.

CTxB[1]

CTxB دارای ساختاری هموپنتامریک[۵ زیر واحد مشابه] و غیرسمی می‌باشد [۶ و ۹]. هر زیر واحد آن از ۱۲۴ اسید آمینه تشکیل شده است. ژن مولد CTB بر روی کروموزوم باکتری ویبریوکلرا قرار گرفته است. هر هموپنتامر از ۵ منومر یکسان که هر یک وزن مولکولی حدود kDa ۱۱/۶ دارند، تشکیل شده است. در مطالعه ساختار سه بعدی CTB در هر منومر ۶ صفحه تخت β [βsheet] و ۲ مارپیچ آلفا [α helix] دیده می‌شود. صفحات β در سطح خارجی پنتامر، و مارپیچ‌های آلفا به صورت یک حفره در مرکز پنتامر قرار می‌گیرند [۶ و ۹].



شکل ۱- ساختار هموپنتامریک و ساختار سه بعدی CTB در هر منومر ۶ صفحه تخت β [β sheet] و ۲ مارپیچ آلفا [α helix] دیده می‌شود. صفحات β در سطح خارجی پنتامر، و مارپیچ‌های آلفا به صورت یک حفره در مرکز پنتامر قرار می‌گیرند[۹]
(D.G. Pina, L. Johannes / Toxicon 45 (2005) 389–393)

گیرنده CTB

گیرنده سطح سلولی CTB نوعی پنتاساکارید گانگلوزید به نام GM_1 است که روی شمار زیادی از سلول‌های هسته‌دار بدن از جمله سلول‌های اپی تلیالی مخاطی، سلول‌های لنفوئیدی و سلول‌های پردازش‌کننده آنتی ژن [APC] بیان می‌شود فقط فرم پنتامریک CTB افینیتی لازم برای اتصال به GM_1 را دارد، پس حفظ حالت و فرم سه بعدی صحیح برای اتصال CTB به GM_1 ضروری است[۸،۱،۶،۹و۱۲]. با مطالعه طیف سنجی فولوروسنت و ماوراء بنفش Fluorescence and UV CD spectroscopy دانشمندان متوجه شدند که اتصال CTB به GM_1 باعث القاء تغییرات ساختاری در ساختمان گیرنده [GM_1] می‌شود که باعث تقویت اتصال می‌گردد. اتصال CTB به گیرنده‌اش همچنین باعث افزایش نشت کانالهای یونی در غشاء سلول‌های روده می‌گردد[۹].

کاربردها و مطالعات انجام شده در مورد CTB

در کل کاربردها، ژن‌های انتقال‌دهنده حالت عمومی داشته و در اکثر آنها مشابه است. CTB به‌عنوان ایمونو ادجوان یا یاور عمل می‌کنند. این عمل به‌واسطه اثرات زیر انجام می‌شود:

۱. با افزایش حلالیت، دیگر آنتی‌ژن‌ها [آنتی‌ژن‌های همراه شده با CTB] باعث افزایش پاسخ می‌شود[۱۳].
۲. سبب افزایش تولید برخی از سایتوکاین‌ها مثل IFNγ، 2 ـ IL، 6 ـ IL می‌شود[۱۲و۱۳].
۳. باعث تقویت ایمنی سلولی می‌گردد؛ مثل تقویت ایمنی سلولی وابسته به سلول‌های CD8 و سلول‌های TH 1 [۱۲].
۴. باعث افزایش در سطح تولید مولکول‌های کمک محرک و سبب تنظیم فعالیت برخی از سلول‌های سیستم ایمنی می‌گردد؛ مثلاً با افزایش تولید مولکول‌های CD80 و CD 86 باعث تنظیم سلول‌های دندرتیک [DC] می‌گردد[۱۳].
۵. سبب افزایش تیتر بعضی از کلاس‌های آنتی‌بادی مثلاً IgA در لایه‌های مخاطی و IgG به صورت سیستمیک می‌شود[۱۲و۱۳].
۶. ایمنی مخاطی را افزایش داده و در برخی از مطالعات دیده شده که باعث تولید آنتی‌بادی ترشحی SIgA می‌شود[۳].

تقویت پاسخ ایمنی مخاطی وابسته به ژن ctxB را به دو صورت می‌توان انجام داد :

۱. با کلون کردن ژن مورد نظر به همراه ژن ctxB به شکل یک واکسن نو ترکیب خوراکی مطرح شده است [۱، ۲، ۴، ۶، ۷، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳و۱۴].

1- Cholera toxin B subunit

۲. با اضافه کردن مستقیم پروتئین CTB به همراه آنتی ژن مورد نظر و تلقیح آن دو [کمپلکس CTB به همراه آنتی ژن] به سلول انجام شده است[۱۲و۱۳].

در این زمینه در سطح جهان و توسط افراد زیادی مطالعاتی صورت گرفته است. ژن ctxB و دیگر ژن‌های انتقالی را در موجودات مختلفی کلون کرده‌اند [۱، ۳، ۶، ۷، ۱۰، ۱۱، ۱۴و۳۹]. از ژن ctxB به عنوان ایجادکننده تحمل در درمان بیماری‌های خودایمن نیز استفاده می‌شود. اگر ژن ctxB را همراه با ژن آنتی‌ژن‌های خودی [auto antigen] در قالب یک واکسن نو ترکیب به کار ببریم سبب القاء تحمل ایمنی می‌شود و کاندید مناسبی برای ایجاد تحمل علیه بیماری‌های خود ایمن می‌باشد. البته اگر ctxB را به همراه یک آنتی ژن بیگانه مثلاً آنتی ژن یک پاتوژن مثل ویروس یا باکتری استفاده کنیم، [هترو آنتی‌ژن] پاسخ ایمنی را القاء خواهد کرد [۳۹]. به طور ساده:

CTxB + auto antigen ------- toleramce
CTxB + hetro antigen ------- Immuno response

البته برای ایجاد تحمل باید واکسن مورد نظر را به صورت خوراکی بکار ببریم. میزان دوز مصرفی واکسن از اهمیت زیادی برخوردار است که باید دقت زیادی در استفاده از آن بشود [۵،۳۹و۴۰]. CTB با مهار تولید سایتوکاین‌هایی مثل TNF و IL-6 وIL-12 و تولید NO [نیتروکسید] در ماکروفاژها تحمل ایمنی را القاء می‌کند. از این خاصیت برای تولید واکسن‌های نوترکیب برای مهار بیماری‌های خود ایمن مثل دیابت ملیتوس خود ایمن استفاده می‌شود [۳۹، ۴۰، ۴۱، و۴۲]. ctxB و همچنین دیگر ژن‌های انتقالی هم نقش تقویت کننده پاسخ ایمنی [به عنوان ادجوان اگر با آنتی‌ژن‌های هتروژن همراه باشد] و هم نقش القاءکننده تولرانس [زمانی که با آنتی‌ژن خود همراه باشد] دارد. البته برای ctxB نقش‌های دیگری نیز می‌توان ذکر کرد که به علت تشابه در بررسی دیگر ژن‌های انتقال‌دهنده به آن اشاره می‌کنیم.

STB[1]

STB توسط ژن STxB کد می‌شود. STB غیر سمی بوده و ساختار هموپنتامریک[۵ زیر واحد]دارد که هر منومر آن از ۶۹ اسید آمینه تشکیل شده است. هر منومر وزن مولکولی حدود 7.7KDدارد. هرمنومر از یک مارپیچ آلفا [α helix] و ۶ صفحه β [β sheet] تشکیل شده است که تاخوردگی اینها بسیار شبیه CTxB است. این ۵ منومر به طریقی تاخوردگی پیدا می‌کنند که صفحات β در سطح خارجی و مارپیچ‌های آلفا در داخل قرار می‌گیرند. STB و STA نیز با پیوندهای غیر کووالان به هم متصل می‌شوند[۹، ۱۵، ۱۸و۱۹].

گیرنده STB

STB به گیرنده سطح سلولی خود به نام Gb_3 متصل می‌گردد که روی اکثر سلول‌های بدن بیان می‌شود[۲۲و۲۳]. Gb_3 نیز یک گلیکواسنگولیپید [گلبوتریوزیل سرآمید] است که در برخی از مقالات از آن تحت عنوان CD77 نام برده شده است[۲۲]. مطالعات نشان داده است که بیان Gb_3 در سطح سلول‌های سرطانی انسان، فراوانی بسیار زیادی دارد. Gb_3 بیان زیادی در سطح سلول‌های سرطانی مثل لنفوما، کارسینوماهای تخمدان، سینه و کلون دارد. همچنین این فراوانی در سطح سلول‌های دندریت [DC] انسانی و موش دیده می‌شود [۹، ۲۲ و۴۳].

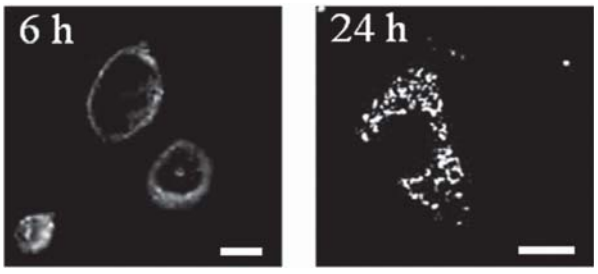
شکل ۲- فرم هموپنتامریک STxB [۹]
(D.G. Pina, L. Johannes / Toxicon 45 (2005) 389–393)

کاربردها و مطالعات انجام شده بر روی STB

نقش‌هایی که برای CTB گفته شده شامل القاء تحمل و القاء پاسخ و نقش ادجوانی برای STB و دیگر ژن‌های انتقال‌دهنده نیز صدق می‌کند. به چندین نقش دیگر این ژن‌ها در اینجا اشاره می‌کنیم.

1- Shiglla Toxin B sub unit

۱- STB به عنوان انتقال دهنده دارو به سلول سرطانی:
به علت وفور بیان گیرنده STB [Gb_3] بر سطح سلول‌های سرطانی از STB برای انتقال دارو به سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود[۱۵، ۱۷ و۲۲]. کمپلکس STB به همراه دارو به Gb3 در سطح سلول‌های سرطانی متصل می‌شود. یکی از اهداف مهم در شیمی‌درمانی در بیماران سرطانی، به حداقل رساندن عوارض جانبی داروها بر دیگر سلول‌های بدن است. به‌همین منظور STB می‌تواند داروی ضد سرطان را مستقیماً وارد سلول سرطانی کند بدون اینکه بر سلول‌های دیگر اثر داشته باشد. امروزه از ویزیکول‌های چندلایه لیپیدی به نام Spherulit به عنوان مخزنی برای انتقال داروها استفاده می‌گردد این ویزیکول‌ها را می‌توان با STB ممزوج کرده و آنها را مستقیماً به سمت Gb_3 فرستاد [۲۲]. اتصال داروها به STB عموماً از ناحیه C ترمینال STB به‌واسطه یک پیوند گوگرد دار به واسطه اسید آمینه Cys انجام می‌گیرد. امروزه داروهای مختلفی را جهت شیمی‌درمانی سرطان توسط STB به سلول‌های سرطانی می‌فرستند. از این مطالعات می‌توان به انتقال دارویی موسوم به SN-38 که یک مهارکننده توپوایزومراز I است [۱۵] و یا به انتقال siRNA [small interfering RNA] در سلول‌های سرطانی اشاره کرد. برای siRNA از ویزیکول‌های spherulit استفاده می‌کنند. siRNA با کنترل بر فرآیند رونویسی در سلول‌های سرطانی باعث مهار سرطان می‌گردد [۲۲].
۲- از STB نشاندار برای تصویربرداری تومور و مطالعه مسیرهای درون سلولی آن استفاده می‌کنند:



شکل ۳- نشاندار کردن STxB با مواد نشاندار [22] Biol. Cell (2008) 100, 717–725

LTB[1]

LT توکسین حساس به حرارت بوده که از خانواده سموم دو زیرواحد می‌باشد و از دو زیر واحد LTA و LTB تشکیل شده است که مشابه با CT زیر واحد A آن [LTA] نقش سمی داشته و با فعالیت ADP ریبوزیلازی خود باعث فعالیت آنزیم آدنیلات سیکلاز و افزایش cAMP می‌شود. اما LTB جزء غیر سمی بوده که با اتصال به گیرنده سطح سلولی باعث ورود قسمت A می‌گردد[۲۴،۲۵و۳۵] و خصوصیاتی بسیار شبیه به CTB دارد. LTB ساختاری هموپنتامریک، غیر سمی، دارای ۱۰۳ اسید آمینه برای هر منومر است و وزن مولکولی حدود ۱۱,۶kDa برای هر منومر دارد. توالی اسیدهای آمینه LTB، ۸۰ درصد مشابه CTB است و از تعداد صفحات β و مارپیچ‌های آلفای مشابه با CTB برخوردار است. LTA و LTB توسط پیوندهای غیر کووالان به هم متصل شده اند. گیرنده LTB نیز مانند CTB همان GM_1 است[که روی اکثر سلول‌های هسته‌دار بدن بیان می‌شود[۹، ۲۴ و۴۴].

مطالعات انجام شده و کاربردهای LTB

تمامی کاربردهای گفته شده برای CTB و STB برای LTB نیز صادق است. همچنین امروزه LTB را همانند CTB و STB در موجودات مختلفی ترانسفورم کرده‌اند. از این موجودات می‌توان به باکتری‌هایی مثل *Lactobacillus brevis* – *Mycobactreium bovis* – *E.coli* و *staphylocous xylosus* و یوکاریوتیک‌هایی مثل *S.cerevisiae*[مخمر] و گیاهانی مثل هویج، سیب زمینی، گوجه فرنگی و حتی کرم ابریشم اشاره کرد. ترانسفورم این ژن‌ها در گیاهان خوراکی اغلب به منظور تولید واکسن‌های خوراکی انجام می‌گردد [۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷ و ۳۹].

RTB[2]

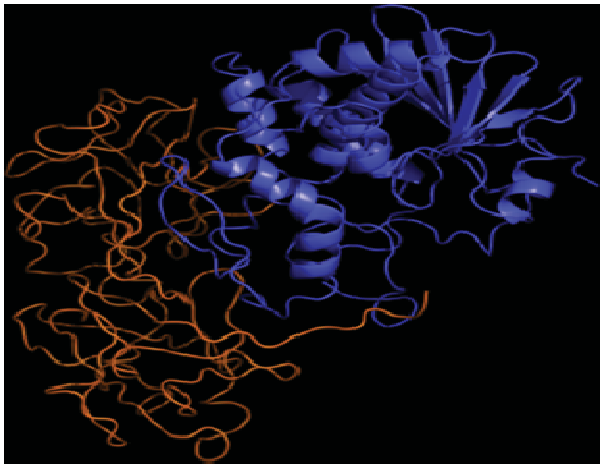
ژن مولد سم ریسین Ricin دارای منشأ یوکاریوتی بوده و سمی بسیار مهلک و خطرناک می‌باشد. Ricin را از گیاهی به نام *Ricins communis* یا همان کرچک می‌گیرند. ریسین یک لکتین گیاهی محسوب می‌شود که تمایل زیادی برای اتصال به مولکول‌های قند دارد. Ricin یک هترودایمر است که از دو زیر واحد متفاوت تشکیل شده است [۳۰، ۳۱، ۳۲ و ۳۴].
RTA [زیرواحد A] جزء سمی محسوب شده و با فعالیت گالاکتوزیدازی [galoctozidase] خود باعث تخریب RNA

1- Heat labile Entrotoxin B sub unit of E.coli

2- Ricin Toxin B subunit

ریبوزوم‌ها شده و با این عمل سبب مهار سنتز پروتئین می‌گردد.

RTB قسمت غیر سمی ریسین است که به رسپتور خود در سطح سلول‌ها متصل شده و سبب ورود RTA به درون سلول می‌شود. RTB و RTA به عکس سموم ذکر شده در بالا، توسط پیوندهای محکم کووالان [از نوع دی سولفیدی] به هم متصل شده‌اند [۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۴و۴۵].



شکل ۴- ساختار سم ریسین (EMBO Journal.5943-5950 [2000](46).

ویژگی‌های RTB

RTB مولکولی است غیر سمی با وزن مولکولی ۳۴kDa و دارای ژنی به اندازه ۷۸۲ [جفت باز] که از خانواده لکتین‌ها بوده و تمایل زیادی برای اتصال به قند گالاکتوز [Gal] و N– استیل گالاکتوزآمین موجود در گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها در سطح سلول‌ها دارد[۳۴و۴۵].

RTB مولکولی مفید به‌عنوان ناقل مخاطی [Mocusal carrier] و یاور محسوب می‌شود. هم‌چنین RTB یک حامل خوب برای داروهای ضد سرطانی در شیمی‌درمانی[مثل دی هیدروفولات ردوکتاز] محسوب می‌گردد[45]. بر روی RTB نیز مطالعات زیادی انجام گرفته و در موجودات زیادی کلون گردیده است. RTB نیز مانند بقیه ژن‌های انتقال‌دهنده به‌عنوان ایمونو ادجوان مخاطی و نیز به‌عنوان ناقل برای ژن P24 بیماری ایدز به‌کار گرفته شده است [۴۵].

نتیجه

بشر امروزی با همت والای خود برای استفاده از طبیعت از ساده‌ترین وسایل و راهکارها کمک می‌گیرد و به مدد دانش فناوری در مسیر تسخیر روز افزون جهان طبیعت با سرعتی بسیار زیاد می‌شتابد. دانش واکسن از دیر باز به خدمت سلامت بشر و حیوانات همت گماشت و علاوه بر پیشگیری و درمان بیماری‌های مسری، در عرصه بهره‌گیری بهتر از طبیعت به ویژه تغذیه انسان و....خوش درخشید. دانش واکسن می‌تواند در خدمت رفع نیازهای بهداشتی، درمانی و اقتصادی انسان‌ها قرار گیرد که خوشبختانه تا حد زیادی این امر تحقق یافته است. یکی از راه‌های مقابله با تهدیدات احتمالی درحوزه سلامت، استفاده از واکسن‌های خوراکی است. اگر چه بیشتر واکسن‌های موثر و کاربردی بصورت تزریقی است ولی گرایش مردم برای استفاده از واکسن‌های خوراکی زیاد است. برای مقابله با بحران‌های منطقه ای و کشوری در حوزه سلامت با آموزش‌های ساده از پتانسیل افراد بومی در صحنه می‌توان استفاده و واکسن‌های خوراکی را در بین مردم پخش کرد. برای طراحی واکسن‌های خوراکی باید موضوعاتی همچون دوز خوراکی، پایداری در اسیدیته بالای معده، پایداری و مقابله با پروتئازهای دستگاه گوارشی، حلالیت واکسن‌ها در pH نزدیک به خنثی و نفوذ پذیری از دیواره روده و غشای پایه و ورود به جریان خون را مد نظر داشت. پایدار سازی، هدایت و افزایش جذب واکسن‌های خوراکی به صورت تغییرات شیمیایی، مهار آنزیم‌های گوارشی و ازدیاد جذب گوارشی، سیستم‌های انتقال، جذب موکوسی و استفاده از میکروب‌های نوترکیب همزیست، از ایده‌های مطرح در طراحی واکسن‌های خوراکی است. به منظور تقویت اثر واکسن‌های خوراکی و حصول موضوعات مطرح شده، دانشمندان توجه خاصی به یاورها دارند. امروزه محدودیت‌های زیادی بر سر راه استفاده از واکسن‌های خوراکی و همچنین شیمی درمانی و تقویت ایمنی بدن وجود دارد که امید است با مطالعات و تحقیقات بیشتر، موانع و محدودیت‌های استفاده از واکسن‌های خوراکی در پدافند غیر عامل کشور بر طرف گردد.

مراجع

1. Verma, D. and Daniell, H; Chloroplast vector systems for biotechnology applications; Plant Physiology; 145. 1129-1143, (**2007**).
2. Takenouchi H, Kiyokawa N, Taguchi T, Matsui J, Katagiri YU, Okita H, Okuda K, Fujimoto J; Shiga toxin binding to globotriaosyl ceramide induces intracellular signals that mediate cytoskeleton remodeling in human renal carcinoma-derived cells; JCell Sci; 117[Pt 17]:3911-3922, (**2004**).

3. Mizuno, Dai, Mikiko Ide-Kurihara; Modified Pulmonary Surfactant Is a Potent Adjuvant That Stimulates the Mucosal IgA Production in Response to the Influenza Virus Antigen; Journal of Immunology; 176p 1122-1130, (**2006**).
4. Massimo Maddaloni, Herman F. Staats; Mucosal Vaccine Targeting Improves Onset of Mucosal and Systemic Immunity to Botulinum Neurotoxin A; Journal of Immunology;- 5524-5532, (**2006**).
5. Jia-Bin, S, Sukanya R; Oral Tolerance Induction with Antigen Conjugated to CholeraToxin B Subunit Generates Both Foxp3_CD25_ andFoxp3_CD25_ CD4_ Regulatory T Cells1; Journal of Immunology; 7636-7644, (**2006**).
6. .He ZY, .Li MF, .Zhang WJ, .Wu XF; Cloning of the CtxB Gene of Vibrio cholerae and Its Expression in E.coli. Acta Biochim. Biophys; Sin; 32: 149-152, (**2003**).
7. .Wang T, .Chen JP, .Li H, .Zhi. KQ, .Zhang L, .Yang CL, .Tao DC; Co-expression and immunity of Legionella pneumophila mip gene and immune adjuvant ctxB gene; .Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai]; Mar;37[3]:199-204, (**2005**).
8. Takeshi, A; Daniel K.X. Chong & William H. R; Efficacy of a food plant-based oral cholera toxin B subunit vaccine; Nature Biotechnology; p. 292-297, (**1998**).
9. David, G.Pina ,Ludger Jonness; Cholera and Shiga toxin B-sub unit thermodynamic and Structural considerations for function and biomedical applications; j.Toxicon. Pages 389-393, (**2005**).
10. Carol, O. Tacket, Hugh S; Immunogenicity in humans of a recombinant bacterial antigen delivered in a transgenic potato; Nature Medicine; 4, 607 – 609, (**1998**).
11. Ana Paula de Mattos Arêas, Maria Leonor Sarno de Oliveira; Synthesis of cholera toxin B subunit gene: cloning and expression of a functional 6XHis-tagged protein in Escherichia coli; Protein expression and purification; 481-487, (**2003**).
12. Alba, E. Sanchez,1 Guillermo Aquino; Cholera Toxin B-Subunit Gene Enhances Mucosal Immunoglobulin A, Th1-Type, and CD8 Cytotoxic Responses When Coadministered Intradermally with a DNA Vaccine Clinical and Diagnostic; Laboratory Immunology; p .711-719, (**2004**).
13. Tetsuya, H; Hideki S; Heteropentameric; Cholera Toxin B Subunit Chimeric Molecules Genetically Fused to a Vaccine Antigen Induce Systemic and Mucosal Immune Responses; Infection and Immunity; p. 5654-5665, Vol. 73, (**2005**).
14. Meng,S, Kaixian Q, Ning, Su; Foot-and-mouth disease virus VP1 protein fused with cholera toxin Bsubunit expressed in Chlamydomonas reinhardtii chloroplast; .Biotechnol Lett;Jul; 25 [13]:1087-92, (**2003**).
15. Abdessamad El Alaoui, Frdric Schmidt; Shiga Toxin-Mediated Retrograde Delivery of a Topoisomerase I Inhibitor Prodrug;,GCDH; Pages 6469 – 6472, (**2007**).
16. Anthony, B; Brigitte D; Intracellular trafficking of Shiga-toxin-B-subunit-functionalized spherulites; Biol. Cell; 717-725, (2008).
17. .Viel, T, .Dransart, E, .Nemati, F, .Henry, E; In vivo tumor targeting by the B-subunit of shiga toxin; .Mol Imaging; 7[6]:239-47, (**2008**).
18. .Zhu, C; .Yu, J; .Yang Z; Protection against Shiga toxin-producing Escherichia coli infection by transcutaneous immunization with Shiga toxin subunit B; Clinical and vaccine immunology; 15[2]:359-66, (**2008**).
19. .Tsuji,T, .Shimizu, T; .Sasaki, K; A nasal vaccine comprising B-subunit derivative of Shiga toxin 2 for cross-protection against Shiga toxin types 1 and 2; .Vaccine .Volume 26, Issue 17, Pages 2092-2099, (**2008**).
20. .Adotevi,. O, .Vingert,. B; B subunit of Shiga toxin-based vaccines synergize with alpha-galactosylceramide to break tolerance against self antigen and elicit antiviral immunity; J Immunol. 1;179[5]:3371-9, (**2007**).
21. .Vingert,. B, .Adotev,i. O; The Shiga toxin B-subunit targets antigen in vivo to dendritic cells and elicits anti-tumor immunity; .European Journal of Immunology .Volume; 36 Issue 5, Pages 1124 – 1135, (**2008**).
22. .Bouter,. A, .Delord,. B; Intracellular trafficking of Shiga-toxin-B-subunit-functionalized spherulites; Biology of the Cell; vol. 100, pp. 717-725, (**2008**).
23. .Torgersen,. ML, .Wälchli,. S; Protein kinase C-delta is activated by Shiga toxin and regulates its transport; .J Biol Chem; 1;282[22]:16317-28, (**2008**).
24. Lim, Jung-Gu1, Jung-Ae Kim; Expression of Functional Pentameric Heat-Labile Enterotoxin B Subunit of Escherichia coli in Saccharomyces cerevisiae; Journal of microbiology and biotechnology vol. 19, n5, pp. 502-510, (**2009**).
25. .Kang TJ, .Han SC; Enhanced expression of B-subunit of Escherichia coli heat-labile enterotoxin in tobacco by optimization of coding sequence; .Appl Biochem Biotechnol; Jun;117[3]:175-87, (**2004**).
26. .Rosales-Mendoza, S; .Soria. Guerra, RE; Expression of Escherichia coli heat-labile enterotoxin b subunit [LTB] in carrot [Daucus carota L.]; .Plant Cell Rep; Jul;26[7]:969-76, (**2007**).
27. .Ravin,. NV, .Kuprianov,. VV; Highly efficient expression of Escherichia coli heat-labile

enterotoxin B subunit in plants using potato virus X-based vector; Biochemistry [Moscow]; Vol. 73, No. 10, pp. 1108_1113, (**2008**).

28. .Connell, TD; Cholera toxin, LT-I, LT-IIa and LT-IIb: the critical role of ganglioside binding in immune modulation by type I and type II heat-labile enterotoxins; .Expert Rev Vaccines; Oct;6[5]:821-34, (**2007**).
29. Alberto, J; Donayre, T; Production and purification of immunologically active core proteinp24 from HIV-1 fused to ricin toxin B subunit in E.col; Virology Journal; p 6-1.7, (**2008**).
30. Bruno, B; Ricin A Chain Can Transport Unfolded Dihydrofolate Reductaseinto the Cytosol; THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY; Vol. 272, No. 35pp. 22097–22102, (**2008**).
31. Bonnie, J; Woffenden,L; Expression of a ricin B:F1:V fusion protein in tobacco hairy roots: steps toward a novel pneumonic plague vaccine; Electronic Journal of Integrative Biosciences; 3[1]:10-19, (**2008**).
32. Nak Won, C; Mary, K; Synthesis of a Ricin Toxin B Subunit-Rotavirus VP7 Fusion Protei in Potato; Molecular Biotecnology; p, 117-127, (**2006**).
33. Fabricio, MB; A non-toxic lectin for antigen delivery of plant-based mucosal vaccines; Vaccine; February 14, 21[9-10]: 997–1005, (**2003**).
34. Nak Won, C; Mary K; William H.R; Ricin Toxin B Subunit Enhancement of Rotavirus NSP4 Immunogenicity in Mice; Viral Immunology; 19,1: 54-63, (**2006**).
35. Jawet & Melnik; Medical Microbiology, (**2007**).
36. Hyun-Soon Kima, Joung-Won Euyma; Expression of human-amyloid peptide in transgenic potato; Plant Science; 165,1445–1451, (**2003**).
37. Robert, A; Spooner, Daniel, C S; Andrew, J E; Retrograde transport pathways utilised by viruses and protein toxin; Virol J; 3, 26, (**2006**).
38. Sandy B,Richard M,Twyman and Robert Wold; Principles of Gene Manipulation: sixth Edition, (**2002**).
39. Zhao Hui, G; Hui Qing, J; Yong Feng J; Expression of Cholera Toxin B Subunit and Assembly as Functional Oligomers in Silkworm; Journal of Biochemistry and Molecular Biology; Vol. 38, No. 6, pp. 717-724, (**2005**).
40. Volker, B; Yoong Eun,K; Bettina, H; Cholera Toxin B Pretreatment of Macrophages and Monocytes Diminishes Their Proinflammatory Responsiveness to Lipopolysaccharide; The Journal of Immunology; 168: 1730-1737, (**2002**).
41. 41. Tracey,R, Raheleh, A, Andrew, D; Expression of cholera toxin B–proinsulin fusion protein in lettuce and tobacco chloroplasts – oral administration protects against development of insulitis in non-obese diabetic mice; Plant Biotechnol J; 5[4]: 495–510, (**2007**).
42. Carter,j; yu,j; Bacterial and plant entrotoxin B subunit –autoantigene fusion proteins suppress diabetes insulitis; .Molecular Biotechnology; Volume 32, pp. 1-15, (**2006**).
43. Susan, E. Slade, JH. Scrivens, K. Jennings,R; The study of a non-covalent protein complex by means of electrospray ionisation mass spectrometry; Biochemistry, 44 [23], pp 8282–8290, (**2005**).
44. .De Haan, L, .Verweij WR, .Feil, IK, .Holtrop M; .Hol, WG; .Agsteribbe, E; .Wilschut, J; Role of GM1 binding in the mucosal immunogenicity and adjuvant activity of the Escherichia coli heat-labile enterotoxin and its B subunit; Immunology; 94[3]: 424–430, (**1998**).
45. Michel, L; Lynne, MR; Ricin: structure, synthesis,and mode of action; Microbial protein Toxins; Volume 11, 495-514, (2005).
46. Sandvig.K; Deurs.B; Entry of Ricin and Shiga Toxins into cells; molecular and mechanisms and medical perspectives. THE EMBO Journal Vol.19 n.22pp.5943-5950 , (**2000**).

Special Adjuvant for the Oral Vaccines and the Role of that in Passive Defense

Hossein Honari[1]

Abstract

One of probable threats in case of civil is security of food and life . Main enemy's goal is to force life and economic loss. Public health and preventing and minimizing life and economic loss is one of country passive defense missions. Throughout the world Vaccine science has been created to prevent human and domestic loss. one way is immunizing bodies with oral vaccines that lots of studies is being done today around the world in order to optimize the usage of vaccine. In order to improve effect of oral vaccine, scientists have special attention to adjuvant. Some of important adjuvant which have drawn researcher's attention are a group of toxins with sub unit [class A B] which have bacterial or plant based. These toxins are used in some aspects and most of the times are used as deliverer. In this study structure of gene, protein, receptors, works done on genes and usage of them in order to expand oral vaccine and their roll in passive defence have been examined.

Key Words: *Passive Defence, Oral Vaccines, Adjuvants & Delivers*

1- Assistant Professor Faculty of Basic Science Imam Hossein University, Tehran (Email: honari.hosein@gmail.com)