تاریخچه و کلیاتی از بیوتکنولوژی

گردآوری و تنظیم: دکتر آشنگرف

مقدمه

بیوتکنولوژی (زیست فناوری) را کارخانه کشت سلولی می نامند، علمی است که در آن با بکارگیری موجودات زنده مانند میکرواورگانیسم ها، گیاهان و جانوران و یا اجزای سازنده آنها (آنزیمها) و یا فرآیندهای زیستی شان برای تولید فرآورده های مورد نیاز بشر استفاده می شود. به عبارت ساده تر بیوتکنولوژی عبارت است از بهره برداری تجاری از اورگانیسم ها و یا آنزیم هاشان. علم بیوتکنولوژی از دل میکروبیولوژی صنعتی بیرون آمده و بسیاری از محققین این دو را مترداف هم می نامند.

امروزه ذخایر میکروبی هر کشور یکی از منابع اصلی جهت استقلال در راستای افزایش تولید محصولات کشاورزی، دامی، تولید دارو و آنتی بیوتیک ها، تولید و افزایش کیفیت مواد غذایی، حذف آلاینده ها و پاکسازی محیط زیست بوده و بدون استفاده از آن، هر کشور، هرگز قادر به تغذیه جامعه انسانی و حفظ سلامت آن نخواهد بود. هر روز گونه های جدید میکروبی شناخته می شوند که حاوی ژنهای با ارزشی مربوط به حذف آلاینده های محیطی و یا با خاصیت های منحصر بفرد دارویی می باشند، که به گستره اطلاعات ما از ذخایر ژنتیکی افزوده می گردد و هر کدام بالقوه می توانند تاثیر شگرفی بر روی ارتقاء زندگی افراد و جامعه داشته باشند. در سال ۲۰۰۰ میلادی ارزش فقط ده محصول مهم بیوتکنولوژی با استفاده از میکرواورگانیسم ها (اتانول، گلوتامیک اسید، سیتریک اسید، پرو تئاز، آسپارتام، سفالوسپورین ها، تتراسایکلین ها، انسولین و اریتروپوئیتین) حدود ۳۵۰ میلیارد دلار بوده است. اهمیت موضوع فوق با در نظر گرفتن این مطلب آشکارتر می شود که به دلیل نوپا بودن غلم میکروبیولوژی صنعتی در مقایسه با دیگر شاخه های علوم بررسی و طبقه بندی موجودات زنده، تاکنون فقط حدود ۱٪ از بین میکرواورگانیسم های موجود در کره زمین شناخته شده است. بنابراین محصولات بیوتکنولوژیک کنونی در جهان فقط ۱٪ میکرواورگانیسم های کره زمین حاصل شده است.

تاریخچه علم بیوتکنولوژی

سابقه استفاده از میکرواورگانیسم ها برای تولید مواد خوراکی از قبیل ماست، پنیر، سرکه و الکل به بیش از ۸۰۰۰ سال پیش بر می گردد. اتانول نخستین ماده شیمیایی بوده که به کمک بیوتکنولوژی تولید شده است. تقریبا تمام اتانولی که امروزه ساخته می شود، از طریق فرآیند تخمیر میکروبی است. در آغاز جنگ جهانی اول نیروی دریایی انگلیس با مسدود کردن راههای دریایی آلمان از واردات

روغن های گیاهی (بویژه روغن زیتون) که سرشار از گلیسرول است و این ترکیب بصورت پیوند استری با اسیدهای چرب است به آن کشور که برای تولید گلیسرول و ساخت مواد منفجره ضروری بود، جلوگیری کرد و در نتیجه آلمانی ها به تولید میکروبی گلیسرول از مخمر ساکارومایسس سرویزیه اقدام کردند و به زودی توانستند تا بیش از ۱۰۰۰ تن در ماه تولید داشته باشند.

[پیوند استری= ترکیب اسید چرب و گلیسرول= گلیسرید= آسیل گلیسرول]

◄تخمیر الکلی: قند تبدیل به استالدئید و در نهایت اتانول می شود که با اضافه کردن بی سولفیت سدیم به محیط کشت تخمیر مخمر ساکارومایسس بی سولفیت استالدئید تشکیل شده که در نهایت تبدیل به گلیسرول ۳ فسفات و سپس گلیسرول می شود.

گلیسرول= گلیسرین= $C_3H_5(OH)_3$

الکل سه عامله است که به هر نسبتی در آب حل می شود و با توجه به خواص ویژه از نظر نقطه ذوب و جوش، جاذب رطوبت بودن، حلالیت خوبش در آب و اتانول، از آن در تهیه کرم های آرایشی، صابون های گلیسیرینه که مانع از خشک شدن پوست می شود، استفاده می شود. بصورت شیاف گلیسیرین برای پیشگیری از یبوست بکار می رود. از آن جهت نگهداری میکرواورگانیسم ها به مدت طولانی استفاده می شود (Glycerol Stock 15 , 30%). در صنایع دارویی و پزشکی بصورت قرص های زیر زبانی نیتروگلیسیرین جهت جلوگیری از حملات قبلی و درمان درد قفسه سینه استفاده می شود. نیتروگلیسیرین یا تری نیتروگلیسیرین چنانچه جذب ماده خنثی ایی به نام دیاتومیت (اسکلت فسیل شده دیاتومه ها که در واقع تشکیل دهنده سنگ های رسوبی هستند) مخلوطی بوجود می آید به نام دینامیت که در واقع آلفرد نوبل به خاطر همین جایزه نوبل گرفت که این امر باعث جذب ثروت بالایی برایش شد البته بعدها نوبل به خاطر استفاده های غیر انسانی از این ماده دچار عذاب وجدان شد و تمام ثروتش را صرف علم کرد.

بعد از آن آلمانی ها در تلافی واردات استون–بوتانول را به انگلیس قطع کردند و انگلیس ناگزیر شد به تولید استون–بوتانول از طریق تخمیر از باکتری *Clostridium acetobutylicum* روی آورد. فرآیند تخمیر استون– بوتانول طی دو مرحله صورت می گیرد که مهمترین ویژگی مرحله اول (Acidogenic phase) تولید اسیدهای آلی (استیک اسید و بوتیریک اسید) از مواد قندی قابل تخمیر و بارزترین خصوصیت مرحله دوم (Solventogenic phase) تولید حلال های آلی از اسیدهای آلی بدست آمده از مرحله اول است. تخمیر استون– بوتانول فرآیند نسبتا ساده ایی است که می تواند در بسیاری از کشورهای جهان سومی که منابع فراوان جهت خرید محصولات پتروشیمی ندارند، مورد استفاده قرار گیرد بخصوص که این کشورها اغلب دارای ذخایر فراوان از مواد خام ارزان قیمت از قبیل چغندرقند و نیشکر، نشاسته و سلولز می باشند. تخمیر فوق در شرایط بیهوازی در دمای ۳۷ درجه بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت صورت می گیرد. در این فرآیند مقدار بسیار بالایی CO_2 و H_2 متصاعد شده که شامل ۶۰ ٪

هیدرات کربن تخمیر پذیر می باشد و برای مصارف صنعتی قابل جمع آوری است. در واقع پس از اتمام فرآیند تخمیر، حلال های مذکور را با تقطیر جزء به جزء بدست می آورند. از کاربردهای استون می توان به عنوان حلال (جهت استخراج، تولید چسب و تولید مواد منفجره)، پاک کننده لاک ناخن، تهیه سلولز استات که بعنوان ماده ایی مهم در ساخت فریم های عینک ها استفاده می شود. بوتانول را نیز بعنوان حلال، افزودنی در صنایع عطرسازی، ماده اولیه در ساخت بسیاری از مواد پتروشیمی مثل بوتیل استات که از آن در ساخت انواع پلیمرها و مواد دارویی استفاده می شود.

تولید دیگری که باز به جنگ جهانی اول برمی گردد، اسید سیتریک است (جوهر لیمو=$C_6H_8O_7$، جوهر نمک=Na_2CO_3، جوش شیرین=بیکربنات سدیم $NaHCO_3$) که قبلا آنرا از مرکبات (لیمو و پرتقال) استخراج می کردند و کشور اصلی تولید کننده آن ایتالیا بود. اسید سیتریک را از طریق فرآیند کشت غوطه ور و بوسیله قارچ *A. niger* تولید می کنند.

◄کاربردهای اسید سیتریک: اسید سیتریک پر مصرف ترین اسید آلی در صنایع غذایی و نوشابه سازی می باشد که با توجه به خواص آن از قبیل حلالیت بالا در آب، طعم مطبوع، ایجاد حالت اسیدیته و عدم ایجاد مسمومیت، بعنوان یک افزودنی خوراکی مجاز (Flavoring agent=Food additive) بسیار حائز اهمیت است. از خواص بافری سیترات در کنترل pH استفاده می شود. اسید سیتریک به دلیل توانایی کلیت کنندگی فلزات در ترکیب شوینده ها یا دترجنت ها کاربرد دارد و در ترکیب شدن با یون های فلزی مانع از مزاحمت آنها در ترکیب با اجزای تمیز کننده می شود. نمک سیترات سدیم در داروسازی بعنوان ضد انعقاد خون استفاده می شود و در واقع با کلیت کردن کلسیم مانع از تبدیل پروترومبین به ترومبین (بعنوان کاتالیزور در تبدیل فیبرینوژن به فیبرین) و در نهایت مانع از تشکیل فیبرین (شبیه EDTA) می شود. بر خلاف کلستریدیوم استوبوتیلیکم، اورگانیسمی که برای تولید سیتریک اسید استفاده می شود، *A. niger* می باشد که هوازی است و باید در حضور اکسیژن کشت داده شود.

پنی سیلین (معروفترین کشف تصادفی در بیوتکنولوژی): توسط فلمینگ در سال ۱۹۲۸ کشف شد. بیش از ۳۰ نوع پنی سیلین از محیط تخمیر بدست می آید. برخی بطور طبیعی و برخی با تغییر محیط کشت مثل اضافه کردن مواد شیمیایی خاصی که در بیوسنتز زنجیره جانبی دخالت دارند، ایجاد می شوند. (فلمینگ اسکاتلندی بود و وقتی هفت سال داشت پدرش درگذشت و اداره مزرعه و تربیت چند فرزند تنی و ناتنی بر دوش وی افتاد، در ابتدا قصد داشت جراح شود ولی باکتری شناس شد. وی در طی جنگ جهانی اول همراه با رایت به فرانسه اعزام شد تا به معالجه سربازان زخمی بپردازد. در آن زمان پزشکان برای درمان جراحت های جنگی (ضد عفونی کردن) از فنل (کربولیک اسید) استفاده می کردند، که فلمینگ متوجه شد که این ماده ضررش از سودش بیشتر بود چرا که گلبول های سفید را نابود می کرد. در سال ۱۹۲۱ فلمینگ بر حسب تصادف میکروب کشی کشف کرد که باکتری ها را از بین می برد اما بر گلبول های سفید اثری نداشت. هنگامی که فلمینگ دچار سرما خوردگی شد از ترشحات بینی خود کشتی تهیه کرد. همچنان که ظرف کشت را که پر از باکتری های زرد رنگ (استافیلوکوک) بود، بررسی می کرد، قطره اشکی از چشمش به درون ظرف افتاد و روز بعد وقتی کشت را مطالعه کرد در قسمتی که اشک ریخته شده بود، هاله شفافی را مشاهده کرد که همین امر باعث کشف لیزوزیم گردید. لیزوزیم در ترشحات بدن مثل اشک، عرق، بزاق، ترشحات گوارش و سفیده

تخم مرغ وجود دارد. همین کشف لیزوزیم زمینه و مقدمه کشف پنی سیلین شد). در تابستان۱۹۲۸ فلمینگ مشغول تحقیق درباره آنفلوآنز ا بود که متوجه شد در یکی از کشت های باکتریایی (استافیلوکوکی) که در ظرف های درپوش دار رشد کرده بودند ناحیه شفافی وجود دارد، تحقیقاتش نشان داد که ظاهرا این ناحیه شفاف در اطراف نقطه ای بوده که وقتی سرپوش ظرف گذاشته نشده، تکه ای کپک به درون آن افتاده است. فلمینگ کپک را جدا و آنرا پنی سیلیوم نامید و پنی سیلین را هم استخراج کرد و همچنین نشان داد که سمیت انتخابی (به سلول های انسانی آسیب نمی رساند) دارد. در آن زمان از پنی سیلین در درمان عفونت های استافیلوکوکی استفاده می شد. استفاده از پنی سیلین نه تنها جان هزاران نفر را در طی جنگ جهانی نجات داد بلکه عاملی شد تا برای کشف آنتی بیوتیک های دیگر پژوهش انجام شود. فلمینگ، فلوری و چین هر سه مشترکا جایزه نوبل را در فیزیولوژی پزشکی در سال ۱۹۴۵ گرفتند و به آنها لقب Sir نایل شدند به دلیل پژوهش هایی که منجر به تسکین آلات و نجات جان انسانهای بی شمار شد. (لقب Sir و Knighthood =شوالیه گری و مقام سلحشوری به کسانی اعطاء می شود که خدمات برجسته و ارزشمند علمی/فرهنگی و هنری دارند). پنی سیلین از خانواده بتالاکتام ها (حلقه چهار ضلعی بتالاکتام و پنج ضلعی تیازولیدین).

***P. notatum* همانند *A. niger* می تواند بصورت هوازی و از طریق کشت سطحی و یا از طریق بیوراکتورهای مخزن دار که در واقع ارمغان بیوتکنولوژی بود، استفاده گردد. ارمغان دیگر تولید پنی سیلین برای بیوتکنولوژی در واقع توسعه روشهای گزینش سویه های برتر بود. کشت پنی سیلیوم نوتاتوم اولیه فقط به میزان ۲ میلی گرم بر لیتر بازده داشت اما با بررسی های انجام شده و جداسازی پنی سیلیوم های مختلف نوع پر محصولی از آن به نام پنی سیلیوم کریزوژنوم شناسایی شد. باز روی همین میکرواورگانیسم روشهای جهش زایی از قبیل مواد شیمیایی جهش زا و یا اشعه UV جهش یافتگانی با بازده بیش از ۲۰ گرم در لیتر بدست آمد. بنابراین می بینیم که در رابطه با توانایی تولید پنی سیلین مدتها توقفی در فعالیت های بیوتکنولوژی ایجاد شد تا شناسایی میکرواورگانیسم های دیگر. یکی از عمده ترین میکرواورگانیسم ها استرپتومایسس گریزئوس (*S. griseus*) بود که آنتی بیوتیک درمانی به نام استرپتومایسین تولید می کردند. اکتینومیست ها که استرپتومیست ها هم جزء آن هستند صدها آنتی بیوتیک مختلف از جمله ۹۰٪ آنتی بیوتیک های شناخته شده کنونی را تولید می کنند. یکی از خصوصیات بارز اکتینومیست ها این است که تولید آنتی بیوتیک ها را از منابعی از نیتروژن کمپلکس که براحتی قابل استفاده نمی باشد را بهتر انجام می دهند بنابراین هر چند عصاره خیسانده ذرت یک ماده اولیه ایده آل برای تخمیر است، اما آرد سویا یکی از سوبسترهای ازتی بهتر و مناسب برای تهیه استرپتومایسین می باشد که نسبتا به آهستگی توسط میکرواورگانیسم ها مورد استفاده قرار می گیرد.**

مشکل دیگری که در تولید استرپتومایسین وجود دارد این است که گاهی مقادیر زیادی از یک ترکیب مشابه ولی ناخواسته به نام مانوزیدو استرپتومایسین (Mannosido streptomycin) تولید می کند که همان گونه که از اسم آن برمی آید این ماده همان استرپتومایسین (آمینوگلیکوزید و در درمان سل) است که یک واحد قندی به نام مانوز به آن وصل شده. فعالیت ضد باکتریایی این ترکیب بسیار کمتر از استرپتومایسین است اما اگر تخمیر تحت کنترل قرار گیرد (اضافه کردن مانان مخمری بعنوان Inducer)، در آخر مراحل کشت آنزیمی به نام مانوزیدو استرپتومایسیناز تولید می شود که باعث جدا شدن مانوز از این ترکیب و تولید استرپتومایسین می شود.

در بیوتکنولوژی بعد از تمرکز بحث روی آنتی بیوتیک ها، نگاه محققین به تولیدات دیگر متمرکز شد. یکی از این تولیدات پروتئین تک یاخته (SCP) می باشد. SCP اصطلاحی پذیرفته شده برای توده سلولی میکروبی است که بعنوان غذای انسان، خوراک دام و طیور به کار برده می شود. این اصطلاح اولین بار توسط پروفسور ویلسون در MIT ابداع شد. به هر حال با توجه به افزایش روز افزون جمعیت و کمبود امکانات کشاورزی بویژه در کشورهای پر جمعیت، بنابراین این کشورها برای رفع نیاز غذای مردم ناچار به وارد کردن مقادیر زیادی مواد اولیه پروتئینی می باشد. SCP از مخمر *Torula* در جنگ جهانی اول توسط آلمانی ها تولید و مصرف انسانی شد. در طی سالهای ۱۹۷۰ تا ۱۹۹۰ تولید SCP از منابع و مشتقات نفت خام بیشترین توجه را به خود جلب کرد. کشورهایی مانند انگلیس، آلمان، ژاپن و روسیه موفقیت های چشمگیری را در این زمینه کسب کردند. شرکت هایی مانند ICI انگلستان، بیومس باکتریایی به نام Pruteen را تولید کردند که سوبسترای آنها متانول بود و بعنوان خوراک دام و طیور به بازار عرضه نمودند. در سال ۱۹۹۷ انستیتو تحقیقات علمی کویت برنامه تحقیقی خود را برای تولید SCP شروع کرد. در این تحقیق ابتدا در شرایط محلی باکتری های بومی مناسب از خاک مناطق کویت جداسازی شد. پس از بهینه سازی و انتخاب بهترین باکتری در حد پایلوت فعالیت را اغاز کردند. این فعالیت بعلت نیاز روز افزون به منابع پروتئینی بود. در مرحله بعد کارخانه صنعتی تولید SCP در حال ساخت بود که متاسفانه در اثر جنگ عراق و کویت این تاسیسات منهدم گردید. در حال حاضر فرآورده های میکروبی تولیدی در سطح پایلوت و یا صنعتی را می توان به موارد زیر تقسیم بندی نمود:

◄تولید متابولیت های میکروبی (اولیه: اسیدهای آلی، اتانول، گلیسرول، ویتامین ها، اسیدهای آمینه؛ ثانویه: آنتی بیوتیک ها و پیگمانها).

◄تولید آنزیم های میکروبی (لیپاز، پروتئاز، آمیلاز، استرپتوکیناز، هیالورونیداز).

◄فرآورده های بیوترانسفورماسیون میکروبی (تولید افزودنی های خوراکی، آنتی بیوتیک های نیمه سنتزی، پروستاگلندین ها، ترکیبات دارویی با ارزش).

◄تولید داروهای شیمی درمانی و سرکوب کننده سیستم ایمنی (Mitomycin، Doxorubicin، Bleomycin، Cyclosporin، Rapamycin).

◄محصولات نوترکیب مهندسی شده.

Biotechnology:White Biotechnology/ Red Biotechnology/ Green Biotechnology/Blue Biotechnology