NCMBJ
Review article

New Cell Mol Biotech
j.12/47 , 2022

Scan online to view this article

Antimicrobial peptides and their heterologous production in plant systems

Shahnam Azizi-Dargahlou, Mohammad Ahmadabadi*

Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

Abstract

Antimicrobial peptides, or AMPs, have broad-spectrum antimicrobial properties, as well as other effects such as anti-cancer, wound healing, and anti-inflammatory properties. The emergence of antibiotic-resistant microbes is one of the major challenges facing humanity, which can make the treatment of many common diseases very difficult. AMPs, found in all six genera of living organisms, can help overcome many of these problems. However, it is very difficult to obtain these peptides from natural sources, which makes the use of alternative methods unavoidable. One of the most important methods for efficient production of these peptides is their expression in biological reactors. Plants are one of the most important systems for the expression of recombinant peptides due to their numerous benefits, especially low production costs. In this review article, AMPs are introduced first and then the production of recombinant antimicrobial peptides and different expression systems with emphasis on the plant system is discussed. Finally, important applications of AMP production in plants are mentioned.

Keywords: Plant bioreactors, Recombinant peptides, Plant expression systems, AMP production technology, Iau Science.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

Corresponding author:
Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
Email: ahmadabadi@azaruniv.ac.ir

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۲ - شماره۴۷ - تابستان۱۴۰۱
NCMBJ
مقاله مروری

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

پپتیدهای ضدمیکروبی و تولید هترولوگوس آن‌ها در سیستم‌های گیاهی

شهنام عزیزی درگاهلو، محمد احمدآبادی*

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

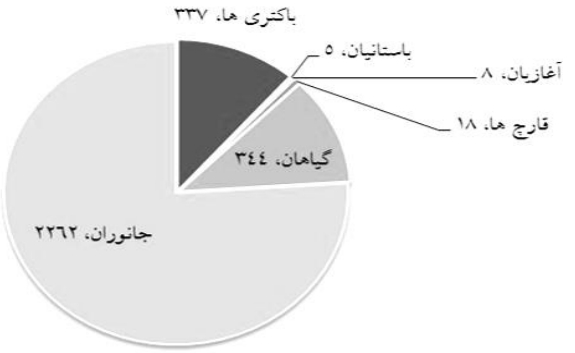
چکیده

پپتیدهای ضدمیکروبی یا AMPها دارای خواص ضدمیکروبی با طیف اثر وسیع بوده و هم‌چنین اثرات دیگری از قبیل ضدسرطان، بهبود زخم و ضدالتهاب نیز از آن‌ها گزارش‌شده است. ظهور میکروب‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، یکی از چالش‌های مهم پیش‌روی بشر است که می‌تواند درمان بسیاری از بیماری‌های رایج را بسیار سخت کند. AMPها که در هر شش سلسله موجودات زنده وجود دارند، می‌توانند در غلبه بر بسیاری از این مشکلات مؤثر باشند. با این‌حال، تهیه این پپتیدها از منابع طبیعی بسیار سخت است که استفاده از روش‌های جایگزین را غیرقابل اجتناب می‌کند. یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای تولید کارآمد این پپتیدها، بیان آن‌ها در رآکتورهای زیستی است. گیاهان، با توجه‌به مزایای بی‌شمار، به‌ویژه هزینه پایین تولید، یکی از مهم‌ترین سیستم‌های بیان پپتیدهای نوترکیب هستند. در این مقاله مروری، ابتدا به معرفی AMPها پرداخته شده و سپس تولید پپتیدهای ضدمیکروبی نوترکیب و سیستم‌های بیان مختلف با تأکید بر سیستم گیاهی مورد بحث قرار گرفته است. در نهایت، کاربردهای مهم تولید AMPها در گیاهان ذکر شده است.

واژه‌های کلیدی: بیوراکتورهای گیاهی، پپتیدهای نوترکیب، سیستم‌های بیانی گیاهی، فن‌آوری تولید AMP،
Iau Science.

مقدمه

پپتیدهای ضدمیکروبی (AMP: Antimicrobial peptides) ترکیباتی با فعالیت چندگانه هستند که در سیستم‌های دفاعی ایمنی ذاتی یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها وجود داشته (۱)، و توانایی تأثیر روی طیف وسیعی از میکروب‌ها را دارند. به‌عنوان مثال، این پپتیدها هم‌زمان می‌توانند روی باکتری‌های گرم‌مثبت و منفی، قارچ‌ها و ویروس‌ها اثر بگذارند. توانایی باکتری‌ها در مقاومت به این پپتیدها به‌دلایل مکانیسم چند اثری و پتانسیل کشندگی آن‌ها در مدت‌زمان کوتاه غیرمحتمل است (۲). این ویژگی‌ها باعث شده که این پپتیدها به‌عنوان یک کاندید مناسب برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌های رایج که مقاومت‌به آن‌ها دیده شده است، مطرح باشند. AMPها در هر شش سلسله موجودات زنده شناخته شده‌اند که بیش‌ترین تعداد آن‌ها مربوط به سلسله‌های جانوران و گیاهان به‌ترتیب به تعداد ۲۲۶۲ و ۳۴۴ است (شکل ۱).



شکل ۱. توزیع پپتیدهای ضدمیکروبی در شش سلسله موجودات زنده. این نمودار برحسب داده‌های موجود در پایگاه APD ترسیم شده است

نویسنده مسئول:
گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران
پست الکترونیکی: ahmadabadi@azaruniv.ac.ir.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۲

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

پپتیدهای ضدمیکروبی اندازه کوتاهی دارند، به‌طوری‌که بزرگ‌ترین آن‌ها دارای ۱۰۰ اسید آمینه است. هم‌چنین، اکثریت آن‌ها دارای بار مثبت بوده و آب‌گریز هستند. پپتیدهای ضدمیکروبی دارای فعالیت‌های مختلفی هستند، که ازجمله‌ی آن‌ها می‌توان به پپتیدهای ضدباکتریایی (باکتری‌های گرم‌مثبت و منفی) (۳)، ضدویروسی از قبیل ویروس ایدز (۴)، ضدقارچی (۵)، ضدانگل‌های مختلف از قبیل مالاریا (۶)، ضدآغازیان (۷)، ضدسرطان (۳)، و یا دارای خواص آنتی‌اکسیدانی (۸)، حشره‌کشی (۹)، مهارکننده پروتئاز (۱۰)، اسپرم‌کشی (۱۱)، بهبود زخم (۱۲)، ضدتوکسین (۱۳)، بازدارنده کانال‌های یونی (۱۴) و ضدالتهاب (۱۵) اشاره کرد. به‌علاوه، AMPها تجمع سلول‌های ایمنی را بهبود می‌بخشند و با القای رگ‌زایی به بهبود زخم کمک می‌کنند (۱۶،۱۷). پپتیدهای ضدمیکروبی را می‌توان بر اساس ویژگی‌های مختلف از قبیل فعالیت، ساختار و فراوانی اسیدهای آمینه به گروه‌های متفاوتی تقسیم‌بندی کرد که نمونه‌ای از این تقسیم‌بندی در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: طبقه‌بندی پپتیدهای ضدمیکروبی (۱۸)

معیار طبقه‌بندی		
فعالیت	ساختار	فراوانی اسیدهای آمینه
پپتیدهای ضدباکتری	پپتیدهای کوچک خطی	غنی از آرژنین
پپتیدهای ضدقارچی	ساختار مارپیچ آلفا	غنی از پرولین
پپتیدهای ضدالتهاب	ساختار نوار بتا	غنی از تریپتوفان
پپتیدهای ضدویروسی	هر دو ساختار مارپیچ آلفا و نوار بتا	غنی از گلایسین
پپتیدهای ضدانگلی		غنی از هیستیدیدن
پپتیدهای ضدویروسی		

پایگاه‌های داده موجود برای AMPها

تا به امروز پایگاه‌های داده مختلفی برای پپتیدهای ضدمیکروبی ایجاد شده‌اند که هرکدام ویژگی‌های خاص خود را دارند. بعضی از این پایگاه‌های داده از قبیل APD (The Antimicrobial Peptide Database) و CAMP (Collection of Anti-Microbial Peptides) عمومی بوده و همه AMPها را دربر می‌گیرند، و برخی دیگر فقط گروه خاصی از AMPها را پوشش می‌دهند. برای مثال، پایگاه داده‌ی PhytAMP مخصوص پپتیدهای ضدمیکروبی گیاهان است؛ و یا پایگاه داده BaAMPs پپتیدهای ضدمیکروبی که علیه زیست‌لایه‌های میکروبی عمل می‌کنند را پوشش می‌دهد.

مکانیسم اثر پپتیدهای ضدمیکروبی

مکانیسم اثر پپتیدهای ضدمیکروبی اغلب شامل نفوذپذیر کردن غشاء از طریق تشکیل حفره‌ها و یا تخریب غشای دولایه است که باعث نشت شیره سلولی و به دنبال آن، مرگ سلول می‌شود. با این‌حال، مکانیسم‌های دیگری نیز گزارش شده‌اند، که یکی از مهم‌ترین آن‌ها، انتقال پپتیدها به داخل سلول و مهار سنتز اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و اجزای دیواره سلولی، و نیز فعالیت آنزیم‌های ضروری است (۱۹). در برخی موارد، اثرات هم‌افزایی پپتیدهای ضدمیکروبی نیز گزارش شده است؛ به‌طور مثال استفاده از سه پپتید ضدمیکروبی، اثرات کشندگی شدیدتری در مقایسه با کاربرد دو پپتید ضدمیکروبی نشان داده است (۲۰).

تفاوت بنیادی بین غشای پستانداران با غشای میکروب‌ها، باعث محافظت وابسته‌به دوز سلول‌های پستانداران در برابر AMPها می‌شود (۲۱). برخلاف میکروب‌ها، غشای سلول‌های پستانداران دارای مقادیر زیادی کلسترول است، که می‌تواند از طریق تثبیت دولایه فسفولیپیدی، باعث کاهش فعالیت AMPها شود (۲۲). هم‌چنین، پتانسیل منفی قوی غشای باکتری‌ها یکی دیگر از عوامل مؤثر در فعالیت وابسته‌به دوز AMPها بین سلول‌های باکتریایی و پستانداران است (۲۱). این تفاوت‌ها باعث شده که برهم‌کنش بین AMPها و غشای سلول‌های پستانداران اغلب از نوع آب‌گریز باشد که در مقایسه با برهم‌کنش AMPها با غشای باکتری‌ها که از نوع الکترواستاتیک است، به‌نسبت ضعیف است، که در نتیجه، کاهش تأثیر پپتیدهای ضدمیکروبی روی غشای پستانداران را به‌دنبال دارد.

اهمیت و نحوه تولید پپتیدهای ضدمیکروبی

در سال‌های اخیر، به‌دلیل استفاده گسترده و نامناسب از آنتی‌بیوتیک‌ها، سرعت ظهور سویه‌های مقاوم باکتری‌ها به دارو در حال افزایش بوده، که یک تهدید آشکار برای سلامتی بشر است (۲۳)؛ بنابراین، تولید عوامل ضدمیکروبی جدید که علیه میکروب‌های مقاوم به دارو مؤثر باشند، ضروری به‌نظر می‌رسد (۲۴). AMPها یکی از مهم‌ترین عوامل ضدمیکروبی با طیف اثر وسیعی هستند که می‌توانند برای مقابله با نسل‌های جدید میکروب‌ها مورد استفاده قرار گیرند.

سه روش برای تولید پپتیدهای ضدمیکروبی وجود دارد: جداسازی از منابع طبیعی، سنتز شیمیایی یا

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

آزمایشگاهی، و در نهایت تولید نوترکیب آن‌ها در میزبان‌های مناسب. پپتیدهای ضدمیکروبی طبیعی را می‌توان از مکانیسم سنتز به دو گروه تقسیم‌بندی کرد؛ (۱) پپتیدهای ضدمیکروبی که توسط ژن‌ها کد شده و به‌واسطه ریبوزوم‌ها ساخته‌ها می‌شوند، و (۲) پپتیدهایی که به‌طور مستقیم توسط ژن‌ها کد نمی‌شوند، بلکه از طریق سیستم آنزیمی چندگانه ساخته می‌شوند. این پپتیدها در واقع متابولیت‌های ثانویه پپتیدی هستند که توسط ریبوزوم‌ها سنتز نمی‌شوند، بلکه سیستم‌های آنزیمی چندگانه و مشارکت اسیدهای آمینه تغییریافته سنتز آن‌ها را امکان‌پذیر می‌کنند. از این گروه پپتیدها می‌توان به گرامیسیدین (Gramicidin)، کلسیتین (Colistin) و داپتومایسین (Daptomycin) اشاره کرد. به‌طور کلی ۹۸ درصد پپتیدهای ضدمیکروبی موجود در پایگاه داده APD مربوط‌به گروه پپتیدهایی است که توسط ژن‌ها کد می‌شوند. این پپتیدها ممکن است بیان دائمی داشته باشند، یا این‌که برای حفظ سلامتی میزبان به‌صورت القایی تولید شوند (۲۵). AMPهای مصنوعی، با استفاده از روش‌های سنتز پپتید ساخته می‌شوند (۲۶)، که به‌دلیل پیچیدگی، عملکرد پایین و هزینه زیاد، کاربرد محدودی دارند (۲۷). استفاده از تکنولوژی مهندسی ژنتیک برای بیان پپتیدهای نوترکیب در میزبان‌های مختلف از قبیل باکتری‌ها، قارچ‌ها و گیاهان می‌تواند یک روش امیدبخش برای تولید AMPها با هزینه کم باشد (۲۸).

تولید AMPها در سیستم‌های باکتریایی، قارچی و گیاهی

باکتری‌ها

در مطالعه‌های اخیر بیش‌تر از باکتری‌ها و قارچ‌ها به‌عنوان میزبان اصلی برای تولید AMPها استفاده شده است، به‌طوری‌که ۹۷/۴ درصد بیان پپتیدهای ضدمیکروبی نوترکیب را دربر می‌گیرند (۲۹). باکتری *Escherichia coli* بیش‌ترین استفاده را در تولید AMPها داشته است (۳۰)، با این حال، چالش‌هایی در مسیر تولید AMPها در میزبان‌های باکتریایی وجود دارد. یکی از مهم‌ترین این چالش‌ها، کنترل فعالیت طبیعی AMPها است که می‌تواند روی سویه‌های باکتری میزبان خاصیت کشندگی داشته باشد. از دیگر چالش‌ها می‌توان به ناپایداری AMPها و تجزیه آن‌ها به‌وسیله پروتئازهای باکتریایی اشاره کرد (۳۱).

قارچ‌ها

قارچ‌هایی از قبیل مخمر نان (*Saccharomyces cerevisiae*) و *Pichia pastoris* بیش‌تر به‌عنوان سیستم‌های بیان استفاده می‌شوند. مخمرها در مقایسه با سلول‌های باکتریایی چندین مزیت دارند، که مهم‌ترین آن‌ها به تغییرات پس از رونویسی و ترجمه، از قبیل گلیکولیزاسیون مربوط می‌شود (۳۲). در مقایسه با کشت سلول‌های پستانداران نیز، مخمرها به‌دلیل رشد سریع و ساده، مقرون به‌صرفه‌تر بوده و در کل موجب افزایش تولید و بهره‌وری پروتئین نوترکیب می‌شود. هم‌چنین، امکان ترشح پروتئین نوترکیب از سلول‌های مخمر به محیط کشت، باعث تسهیل فرآیند تولید و خالص‌سازی پپتید نوترکیب در مقیاس وسیع می‌شود (۳۳،۳۴). البته مخمر یک موجود تخمیری بوده و برخی از کربن‌های آن می‌تواند برای تولید اتانول هدایت شوند، که باعث کاهش بیوماس و به‌دنبال آن کاهش تولید پپتید نوترکیب می‌شود (۳۵). به‌همین دلیل، ممکن است مخمر نیز مناسب‌ترین میزبان برای تولید انبوه پپتیدهای ضدمیکروبی نباشند.

گیاهان

در مقایسه با سیستم‌های میکروبی و حیوانی، تولید پپتیدهای نوترکیب در سیستم‌های گیاهی مزایای متعددی، به‌ویژه هزینه پایین و سهولت تولید در مقیاس وسیع دارد (۳۶). هم‌چنین، در مقایسه با باکتری‌ها، در سلول‌های گیاهی تغییرات پس از ترجمه به‌صورت صحیح روی پپتیدهای نوترکیب اتفاق می‌افتد (۳۷). به‌علاوه، گیاهان حاوی توکسین‌های باکتریایی و پاتوژن‌های انسانی از قبیل ویروس‌ها و پریون‌ها نبوده، و درنتیجه، پپتیدهای نوترکیب به‌دست‌آمده از آن‌ها ایمن‌تر است. در برخی موارد، پپتیدهای نوترکیب تولیدشده در گیاهان می‌توانند بدون خالص‌سازی و به‌صورت واکسن خوراکی مصرف شوند که باعث کاهش چشم‌گیر هزینه تولید می‌شود (۳۸). در جدول زیر، مزایا و معایب سیستم‌های مختلف بیان پپتیدهای نوترکیب به‌صورت اجمالی آورده شده است (جدول ۲).

تولید پپتیدهای نوترکیب در گیاهان

مقدار تولید پپتیدهای نوترکیب در گیاهان به‌شدت به انتخاب نوع پیش‌بر یا پروموتر، نوع درج ژنومی (هدفمند یا غیرهدفمند)، تعداد نسخه‌های تراژن و بافت هدف وابسته است(۴۰،۴۱). استفاده از پروموترهایی با قدرت بیان بالا، بهینه‌سازی کدون‌ها و جایابی مناسب

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

جدول ۲. مقایسه ویژگی‌های سیستم‌های مختلف برای تولید پپتیدهای نوترکیب (۳۹)

میزبان	سرعت تولید	هزینه تولید	گلیکوزیلاسیون	مونتاژ پروتئین‌های چند زیرواحدی	فولدینگ	ایمنی	قابلیت افزایش تولید
باکتری	+++	++	+	+	+	++	+
مخمر	++	++	+	+	+	++	++
کشت سلولی حشرات	+++	++	+	++	+	+	++
گیاهان	++	+++	++	++	++	+++	+++
کشت سلولی پستانداران	+	+	++	++	+++	+	+
حیوانات تراریخت	+	+	+++	+++	++	+	++

درون‌سلولی، می‌تواند باعث افزایش معنی‌دار تولید پپتیدهای نوترکیب شود (۴۲). از هر دو روش بیان موقت و پایدار می‌توان برای تولید پپتیدهای نوترکیب در گیاهان استفاده کرد که اطلاعات کلی این روش‌ها در جدول ۳ آمده است.

جدول ۳: مقایسه مشخصات بیان پایدار و موقت پپتیدهای نوترکیب در گیاهان (۴۲)

مشخصات	بیان پایدار				بیان موقت	
	انتقال ژن به هسته			انتقال ژن به پلاستید	استفاده از ویروس	تلقیح با آگروباکتریوم
	جذب مستقیم از طریق پروتوپلاست	استفاده از تفنگ ژنی	استفاده از آگروباکتریوم	استفاده از تفنگ ژنی		
وابستگی به ژنوتیپ	وابسته	وابستگی کم	وابسته	وابستگی کم	وابسته	وابسته
طیف گیاهان میزبان	محدود	زیاد	زیاد	محدود	محدود	محدود
ناقل‌ها	ساده	ساده	پیچیده	پیچیده	پیچیده	پیچیده
قابلیت استفاده از DNA خطی	دارد	دارد	ندارد	دارد	ندارد	ندارد
انتقال قطعات بزرگ‌تر از ۱۰۰۰ kb	امکان‌پذیر	امکان‌پذیر	امکان‌پذیر	غیرممکن	امکان‌پذیر	امکان‌پذیر
تعداد نسخه ژن درج‌شده در ژنوم	کم	زیاد	کم	یک نسخه در هر ژنوم	بدون درج شدن	بدون درج شدن
تغییرات پس از ترجمه	امکان‌پذیر	امکان‌پذیر	امکان‌پذیر	غیرممکن	امکان‌پذیر	امکان‌پذیر
سطح بیان	کم	کم	متوسط	زیاد	زیاد	زیاد
کارایی انتقال ژن	کم	متوسط	زیاد*	خیلی کم	زیاد	زیاد
نیاز به تجهیزات خاص و گران‌قیمت	ندارد	دارد	ندارد	دارد	ندارد	ندارد
پیچیدگی روش‌ها	پیچیده	ساده	ساده	پیچیده	ساده	ساده
ایمنی-زیستی	نسبی**	نسبی**	نسبی**	زیاد***	زیاد***	زیاد***

* کارایی انتقال ژن برای برخی گونه‌های گیاهی پایین است.

** برای جلوگیری از آزاد شدن تراژن در طبیعت، نیاز به رعایت پروتکل‌های ایمنی-زیستی است.

*** پلاستیدها وراثت مادری دارند، و درنتیجه تراژن از طریق دانه‌های گرده منتشر نمی‌شود.

مواردی از تولید موفق پپتیدهای ضدمیکروبی در گیاهان

در سال ۱۹۹۸ میلادی، برای افزایش مقاومت‌به بیماری، ژن سارکوتوکسین IA به‌عنوان یک پپتید ضدمیکروبی در توتون بیان شد. با وجود این‌که mRNA سارکوتوکسین IA در گیاهان تراریخته تا سطوح قابل تشخیص انباشته شد، مقدار پپتید تولید شده به‌قدری کم بود که به‌سختی قابل تشخیص بود، که دلیل آن ناپایداری پپتیدهای کوتاه در سلول‌های گیاهی عنوان شد. برای بررسی این احتمال، این ژن از طریق هم‌جوشی ترجمه‌ای به‌همراه ژن کدکننده بتا گلوکورونیداز (GUS) بیان شد. نتایج این تحقیق نشان داد که همانند رونوشت‌ها، پروتئین امتزاجی نیز در گیاهان تراریخته در سطوح بالایی تجمع پیدا می‌کند. با این حال، بر خلاف حالت بیان انفرادی، گیاهان تراریخت بیان کننده پروتئین امتزاجی اغلب دارای غشاها و فنوتیپ‌های غیرطبیعی بودند (۴۳).

پپتیدهای ضدمیکروبی با ساختارهای مارپیچ آلفا، از قبیل BP100، دارای فعالیت قوی و اختصاصی در برابر باکتری‌های بیماریزای گیاهی هستند. همچنین، این پپتیدها به عنوان مواد درمانی و نگهدارنده با ارزش شناخته می‌شوند. با این حال، مشتقات بسیار فعال BP100 اغلب هنگامی که در سطوح بالا به عنوان پپتیدهای نوترکیب در گیاهان بیان می شوند، فیتوتوکسیک هستند. بررسی‌ها نشان داده که تولید پپتیدهای فیتوتوکسیک نوترکیب در گیاهان تراریخته با محدود کردن دقیق بیان ژن در بافت‌ها و شرایط خاص امکان‌پذیر است. برای مثال، در برنج، با استفاده از پروموتر Os.hsp82 که در پاسخ به شوک حرارتی به شدت القا می‌شود، لاین‌های تراریخته‌ای تولید شد که بازدهی متوسطی برای تولید

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

مشتقات سمی BP100 را در مواجهه با دمای بالا داشتند (۴۴).

سکروپین A (Cecropin A) یک پپتید ضدمیکروبی طبیعی است که با داشتن فعالیت لیتیک سریع، قوی و طولانی‌مدت پتانسیل بیوتکنولوژیکی بالایی برای ایجاد مقاومت در برابر طیف وسیعی از پاتوژن‌ها دارد. تولید سکروپین A با استفاده از نسخه مصنوعی ژن با کدون بهینه‌شده تحت کنترل پروموتر اختصاصی آندوسپرم در بذر گیاه برنج گزارش شده است. نتایج نشان داد که سکروپین A در در آندوسپرم برنج تجمع می‌یابد، بدون اینکه تأثیری بر زنده ماندن بذر یا رشد گیاهچه داشته باشد. به‌علاوه، بذرهای تراریخته نسبت‌به عفونت توسط پاتوژن‌های قارچی و باکتریایی از قبیل *Fusarium verticillioides* و *Dickeya dadantii* مقاومت نشان دادند (۴۵).

استفاده نامناسب از آنتی‌بیوتیک‌ها، موجب افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی پاتوژن‌ها و گسترش روزافزون بیماری‌های عفونی پستانداران می‌شود. پپتیدهای ضدمیکروبی از قبیل پروتگرین-۱ (Protegrin-1: PG-1) با داشتن اثرات ضدمیکروبی با طیف وسیع، می‌توانند جایگزین مناسبی برای رفع این مشکل باشند. این پپتید با موفقیت در گیاه توتون بیان شده است. بر خلاف گیاهان طبیعی، عصاره پروتئینی بافت‌های گیاهان تراریخته میزان رشد را به میزان ۵۳/۲٪ در *Klebsiella pneumoniae*، ۷۰/۲٪ در *Staphylococcus aureus*، ۵۶/۶٪ در *Escherichia coli*، ۷۲٪ در *Mycobacterium bovis* BCG، و ۷۰٪ در *Candida albicans* مهار کرد (۴۶). بنابراین، این نوع پپتیدهای ضدمیکروبی تولید شده در سلول‌های گیاهی، می‌توانند رشد و فعالیت چندین پاتوژن باکتریایی و قارچی انسان را کنترل کنند.

لاتروسپورولین ۱ (Laterosporulin-1) به‌عنوان یک پپتید ضدمیکروبی با دامنه وسیع مهارکنندگی در برابر عوامل بیماری‌زا از قبیل *Staphylococcus aureus* و *Mycobacterium tuberculosis*، با موفقیت در گیاه توتون به مقدار ۹۳/۸ میکروگرم در گرم وزن تر بیان شده است (۴۷).

اخیرا پپتید ضدمیکروبی LL-37 با استفاده از پروموتر مخصوص آندوسپرم، در بذر گیاه جو تولید شده است. تولید پپتید LL-37 در طول ۶ نسل متوالی و اثرات ضدمیکروبی آن پایداری پپتید عملکردی در گیاهان تراریخت را اثبات کرد (۴۸). تولید پپتیدهای ضدمیکروبی در اندام‌هایی از قبیل بذر می‌تواند علاوه بر جلوگیری از اثرات نامطلوب پروتئین بیگانه روی اندام‌های دیگر گیاه، در نگهداری طولانی‌مدت، حمل و نقل آسان، و استخراج و خالص‌سازی محصول، مفید باشد.

در سال‌های اخیر، گیاهان به‌دلیل مزایای منحصر به فرد خود مانند سرعت، مقیاس‌پذیری و ایمنی بیش‌تر برای تولید AMPها مورد توجه قرار گرفته‌اند. هم‌چنین، همان‌طور که در بالا اشاره شد، پپتیدهای ضدمیکروبی می‌توانند برای توسعه رویکردهای جدید برای حفاظت از گیاهان و در نتیجه افزایش عملکرد محصول مورد استفاده قرار گیرند (۴۹).

کلروپلاست یک میزبان استثنایی برای تولید پپتیدهای ضدمیکروبی

تا حدود یک دهه پیش، بیش‌تر تحقیقات بیان پپتیدهای نوترکیب از طریق انتقال پایدار ژن موردنظر به ژنوم هسته انجام می‌گرفت. مشکل اصلی تولید پپتیدهای نوترکیب از طریق انتقال ژن به هسته، بیان بسیار پایین آن در اکثر موارد است، به‌طوری‌که به‌طور معمول به بیش از یک درصد کل پروتئین‌های محلول نمی‌رسد. کلروپلاست از اندامک‌های داخل سلولی است که با انجام عمل فتوسنتز، بقای حیات بر روی کره زمین را تضمین می‌کند. یک سلول مزوفیل برگ تنباکو حدود ۱۰۰ عدد کلروپلاست دارد و در هر کلروپلاست کمابیش ۱۰۰ نسخه از ژنوم کلروپلاست وجود دارد. بنابراین هر سلول مزوفیل برگ می‌تواند بیش از ۱۰۰۰۰ نسخه ژنوم کلروپلاست داشته باشد (۵۰). اگر ژن خارجی را به داخل ژنوم کلروپلاست انتقال دهیم، در واقع در داخل هر سلول مزوفیل برگ، حدود ۱۰۰۰۰ نسخه از آن وجود خواهد داشت (برای مطالعه بیش‌تر به مقاله (۵۱) مراجعه نمایید). در نتیجه، میزان بیان پروتئین خارجی به‌مراتب بیش‌تر از انتقال ژن به هسته خواهد بود. در هسته، انتقال چند نسخه از ژن خارجی، احتمال خاموشی ژن وارد شده را افزایش می‌دهد، درحالی‌که، خاموشی ژن تا به حال در اندامک کلروپلاست گزارش نشده است (۵۲). با این حال، تعداد نسخه‌های بالای ژنوم پلاستید، انتقال پایدار ژن به این اندامک را بسیار سخت می‌کند، چرا که پس از انتقال موفق ژن خارجی به یکی از نسخه‌های ژنوم پلاستید، برای رسیدن به حالت پایدار، باید تمام نسخه‌های طبیعی حذف و با نسخه تراریخت ژنوم پلاستید (ترانس-پلاستوم) جایگزین شوند. این حالت که به‌اصطلاح هموپلاسمی گفته می‌شود، از طریق دو الی چهار دور باززایی مجدد روی محیط گزینشی با فشار بالا صورت می‌گیرد (۵۱).

کلروپلاست‌ها که از اجداد پروکاریوتی منشاء گرفته‌اند، دارای غشای دولایه هستند که می‌تواند پروتئین‌های خارجی را محافظت کرده و تأثیر آن‌ها بر روی فرآیندهای فیزیولوژیکی

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

گیاه میزبان کاهش دهد. چندین ویژگی پروکاریوتی نیز در پلاستیدها حفظ شده است، که برای آزمایشات انتقال ژن مفید است. برای مثال، سیستم بیان ژن در پلاستیدها به‌صورت پلی‌سیسترونیک بوده، و درنتیجه، انتقال و بیان چندین ژن به‌صورت هم‌زمان در قالب یک اپرون امکان‌پذیر است (۵۳). یک ویژگی منحصربه‌فرد دیگر در کلروپلاست‌ها، بالا بودن کارایی نوترکیبی همولوگی است که درج هدفمند ژن خارجی در جایگاه ازپیش‌تعیین‌شده در ژنوم کلروپلاست را ممکن می‌کند. برای این منظور لازم است تا ناقل‌های اختصاصی برای درج ژن در کلروپلاست طراحی و ساخته شود (۵۴،۵۵). در انتقال ژن به هسته، درج ژن به‌طور معمول به‌صورت تصادفی اتفاق می‌افتد، و بنابراین، بسته‌به محل درج ژن خارجی، میزان بیان آن متفاوت خواهد بود. البته در سال‌های اخیر، سیستم‌هایی برای درج هدفمند ژن در ژنوم هسته با استفاده از اندونوکلئازهای مهندسی شده از قبیل TALENها، ZFNها و سیستم CRISPR/Cas9 نیز توسعه یافته‌اند. در نهایت، وراثت مادری کلروپلاست در اکثر گیاهان باعث می‌شود که ژن خارجی از طریق دانه گرده به محیط اطراف پراکنده نشود (۵۶) که می‌تواند احتمال فرار تراژن از طریق دانه‌ی گرده را به حداقل برساند. این مزایا سبب شده است که تا به‌حال چندین پروتئین درمانی از جمله پروتئین‌های خون انسان از قبیل سوماتوتروپین (۵۷)، فاکتور رشد شبه انسولین (۵۸،۵۹) و آلفا ۱-آنتی‌تریپسین (۶۰) در این اندامک تولید شود. به‌علاوه، چندین واکسن آنتی‌ژن علیه چندین پاتوژن باکتریایی از جمله زیرواحد B توکسین وبا (۶۱)، سم کزاز (۶۲) و آنتی‌ژن محافظ سیاه‌زخم (۶۳) در کلروپلاست بیان شده‌اند. پپتید ضدمیکروبی MSI-99 در کلروپلاست‌های تنباکوی تراریخته بدون اثرات مضر روی گیاه تولید شده است (۶۴). در مطالعه دیگر، یک پپتید ضدمیکروبی به نام PlyGBS در کلروپلاست‌های توتون در سطوح بالایی (بیش از ۷۰٪ TSP) بیان شد (۶۵). رتروسیکلین-۱۰۱ (Retrocyclin-101) و پروتگرین-۱، به دلیل ساختار پیچیده و فعالیت‌های ضدمیکروبی نمی‌توانند در سیستم‌های میکروبی تولید شوند. با این حال، هر دو پپتید با موفقیت و به‌ترتیب به میزان ۳۸ و ۲۶ درصد پروتئین کل محلول در کلروپلاست گیاه توتون تولید شده‌اند (۶۶). این نتایج نشان می‌دهند که علی‌رغم فرضیه موجود در خصوص منشاء باکتریایی کلروپلاست (۶۷)، به‌نظر می‌رسد تغییرات ایجاد شده در غشای کلروپلاست‌ها در طول تکامل برای سازگاری این اندامک با سیستم یوکاریوتی به اندازه‌ای بوده که پپتیدهای ضدمیکروبی روی آن‌ها تأثیر منفی نداشته باشند.

چالش‌های موجود در تولید پپتیدهای نوترکیب در گیاهان

اگرچه تولید AMPها در گیاهان راهکار امیدوارکننده‌ای را برای کاربردهای جدید در پزشکی و کشاورزی ارائه می‌کند، با این حال، تولید تجاری مسیری چالش‌برانگیز است. این چالش‌ها ممکن است در مراحل مختلف توسعه یا فرآیند تولید از جمله طراحی استراتژی بیان، تولید ارگانیسم‌های تراریخته، تکثیر کلون‌ها، و توسعه تکنیک‌های استخراج و خالص‌سازی ایجاد شوند (۶۸). علاوه‌بر این، پپتیدهای مشتق شده از گیاه باید همان استانداردهای ایمنی، کیفیت و اثربخشی سایر سیستم‌های بیان هترولوگ را داشته باشند.

در حال حاضر، رهاسازی و جذب پروتئین‌های نوترکیب خوراکی یکی از مهم‌ترین چالش‌های تولید پپتیدهای نوترکیب در گیاهان است. دیواره سلولی گیاهان در برابر اسیدهای معده و سایر آنزیم‌های گوارشی مقاوم هستند، و بنابراین پروتئین‌های نوترکیب به‌وسیله این مانع طبیعی از تجزیه شدن در سیستم گوارشی انسان محافظت می‌شوند. زمانی که سلول‌های دست‌نخورده گیاهی به روده‌ی کوچک می‌رسند، برخی میکروب‌ها، گلیکان‌های دیواره سلول گیاهی را هضم کرده و باعث تسهیل آزادسازی پپتیدهای دارویی نوترکیب می‌شوند. برای عبور پپتیدهای دارویی از سلول‌های اپی‌تلیال روده و ورود آن‌ها به سیستم گردش خون یا سیستم ایمنی بدن، لازم است پپتیدهای نوترکیب با پپتیدهای نشانه مناسب هم‌جوشی یابند (۶۹).

از دیگر چالش‌های موجود در مسیر تولید پپتیدهای نوترکیب دارویی در گیاهان، تفاوت‌های تغییرات پس از ترجمه از قبیل گلیکوزیلاسیون در گیاهان و پستانداران است. برای مثال، در گیاهان افزودن قندهای بتا (۱،۲) زایلوز و آلفا (۱،۳) فوکوز به‌صورت N-گلیکوزیدی معمول است، در حالی‌که این قندها در سلول‌های پستانداران وجود ندارند. البته، روش‌هایی برای ممانعت از این نوع تغییرات پس از ترجمه و انجام گلیکوزیلاسیون صحیح به‌کار گرفته شده‌اند (۷۰،۷۱). برای مثال، ژن‌های کدکننده آنزیم‌های زایلوزیل ترانسفراز و فوکوزیل ترانسفراز که در واکنش‌های گلیکوزیلاسیون گیاه دخالت دارند، با استفاده از فناوری‌های RNAi و CRISPR/Csa9 حذف شده، و ژن‌های کدکننده آنزیم‌های گلیکوزیلاسیون انسانی از قبیل سالیسیلیک اسید ترانسفراز و گالاکتوزیل ترانسفراز به‌صورت پایدار و یا موقت به گیاه منتقل شده‌اند (۳۹،۷۲).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

پروتئازهای موجود در گیاه میزبان نیز یکی از فاکتورهای مهم تأثیرگذار در میزان تجمع پروتئین‌های نوترکیب است. این پروتئازها در تخریب پروتئین‌های غیرطبیعی و یا پروتئین‌هایی که به‌درستی فولد نشده‌اند، نقش دارند. چندین روش برای جلوگیری یا کاهش اثرات پروتئازها بر روی پروتئین‌های نوترکیب و افزایش پایداری آن‌ها توسعه یافته‌اند. از این تکنیک‌ها می‌توان به بیان پروتئین‌ها در اندامک‌های درون-سلولی، بیان القایی پروتئین‌ها در یک بافت یا زمان خاص، بیان هم‌زمان پروتئین با یک بازدارنده پروتئیناز، و یا هم-جوشی پروتئین هدف با یک پپتید نشانه با پایداری بالا اشاره کرد (۷۳). شبکه اندوپلاسمی (ER) یکی از اجزای سلولی است که حاوی تعداد کمی آنزیم پروتئاز است و بنابراین، می-تواند یک محیط مناسب برای تجمع پروتئین‌های نوترکیب فراهم کند. استفاده از توالی‌های پپتید نشانه KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) و HDEL (His-Asp-Glu-Leu) نیز می-تواند پایداری پروتئین‌های نوترکیب در ER را افزایش دهد. هم‌چنین، حضور پروتئین‌های چپرون در ER می‌تواند به فولدینگ و مونتاژ پروتئین‌های خارجی و انجام تغییرات پس‌از ترجمه صحیح به‌ویژه گلیکوزیلاسیون نیز کمک کند (۷۴،۷۵).

انتقال افقی ژن از گیاهان به میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه زمانی که گیاهان تراریخت حاوی ژن‌های گزینشگر مقاومت به آنتی-بیوتیک هستند، یکی دیگر از چالش‌های استفاده از سیستم-های گیاهی برای تولید پروتئین‌های نوترکیب است. با وجود اینکه احتمال این پدیده بسیار کم است (۷۶،۷۷)، با این‌حال، برای اطمینان بیش‌تر، توصیه می‌شود ژن گزینش‌گر پس از انتقال ژن هدف، از گیاه تراریخت حذف شود. هم‌چنین، بهتر است عمل برداشت محصول قبل از گل‌دهی صورت گیرد تا امکان فرار ژن از طریق گرده‌افشانی به حداقل برسد.

اهداف تولید AMPها در میزبان‌های گیاهی

تولید هترولوگوس AMPها در گیاهان با دو هدف صورت می-گیرد. هم‌چنان‌که در قسمت‌های قبل شرح داده شد، گیاهان به‌عنوان یک میزبان مناسب برای تولید پپتیدهای نوترکیب هستند. هم‌چنین، ویژگی‌هایی از قبیل وزن مولکولی کم، طیف اثر وسیع، عملکرد سریع، سمیت کم برای سلول‌های پستانداران و حالت‌های مختلف اثرگذاری، استفاده از AMPها را به‌عنوان یکی از روش‌های امیدوارکننده برای کنترل پاتوژن-های گیاهی مخرب در کشاورزی تبدیل کرده است (۷۸). در این مورد، بیش‌تر از AMPهای گیاهان و جانوران برای تولید گیاهان تراریخت مقاوم‌به بیماری‌های باکتریایی و قارچی استفاده می‌شود و پپتیدهای ضدمیکروبی مشتق شده از باکتری‌ها به‌ندرت استفاده می‌شوند (۷۹). پاتوژن‌های گیاهی اغلب شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، اومیست‌ها، ویروس‌ها و نماتدها هستند که هر ساله خسارت زیادی به محصولات زراعی وارد می‌کنند. تا به امروز ژن‌های پپتیدهای ضدمیکروبی مختلفی به‌صورت تکی (۸۰،۸۱) و یا چندتایی (۷۲) به‌منظور افزایش مقاومت گیاهان به پاتوژن‌های مختلف به گیاهان وارد شده‌اند و مقاومت گیاهان تراریخت در مقابل بیماری‌های باکتریایی و قارچی به اثبات رسیده است. تحقیقات نشان می‌دهند که تغییرات پس از ترجمه از قبیل فولدینگ صحیح، تشکیل پیوندهای دی‌سولفیدی و گلیکوزیلاسیون که برای فعالیت AMPها ضروری‌اند، در سیستم‌های تولید مبتنی‌بر گیاهان دست‌یافتنی هستند (۷۵،۸۲). در اغلب مطالعه‌ها، بیان پایدار AMPها تحت کنترل پروموتر CaMV35S و یا یوبی‌کوئیتین به‌دست‌آمده است (۷۸). برخی از پروموترهای القاءشونده با زخم یا پاتوژن می‌توانند به‌منظور کنترل بیان AMPها استفاده شوند که این عمل به حذف اثرات جانبی AMPها در گیاه میزبان و جلوگیری از اثرات ناخواسته روی موجودات غیرهدف که با گیاهان در ارتباط هستند، کمک می‌کند (۷۸). در گیاه برنج، برای مثال، درج پایدار ژن پپتید ضدمیکروبی Cecropin A در بذور با استفاده از پروموتر مخصوص اندوسپرم، باعث مقاومت آن‌ها به بیماری‌های قارچی و باکتریایی شد، بدون اینکه تأثیر منفی روی قوه نامیه بذرها داشته باشد (۸۳).

نتیجه‌گیری

پپتیدهای ضدمیکروبی یا AMPها پپتیدهایی با اندازه کوچک هستند که روی دامنه وسیعی از میکروب‌ها تأثیر می‌گذارند. تاکنون تعداد زیادی از این پپتیدها در تمام سلسله‌های موجودات زنده کشف، و ژن‌های آن‌ها شناسایی شده‌اند. امروزه با ظهور میکروب‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و ناتوانی بشر در کنترل این نوع میکروب‌ها، AMPها می‌توانند برای درمان بیماری‌های دام و طیور، آبزیان و گیاهان، بسیار امیدبخش باشند. در سال‌های اخیر، تولید تجاری این پپتیدها که کاربردهای وسیع دیگری ازجمله در صنایع غذایی و بهداشتی نیز دارند، بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از سیستم‌های بیان پروتئین‌های نوترکیب در میزبان‌های مناسب ازجمله باکتری‌ها، مخمرها و گیاهان، یکی از مهم‌ترین روش-های تولید مقرون‌به‌صرفه AMPها در سطوح تجاری است. در این بین، با توجه‌به این‌که گیاهان برای رشد خود نیازمند تهیه و تدارک محیط‌های کشت خاصی نبوده و با تکیه بر نور خورشید، دی‌اکسیدکربن هوا، آب و خاک مناسب رشد می-کنند، می‌توانند به‌عنوان یک میزبان ارزان‌قیمت برای تولید AMPهای نوترکیب استفاده شوند. در مواردی نیز می‌توان پپتیدهای نوترکیب تولید شده در گیاهان را به‌صورت مستقیم

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

و بدون نیاز به مرحله‌ی خالص‌سازی که سخت و هزینه‌بر می-باشد، استفاده کرد. امروزه با پیشرفت روش‌های نوین در درج هدفمند ژن‌ها در ژنوم گیاهان و هم‌چنین بهره‌گیری از اندامک کلروپلاست که میزان تولید پپتید نوترکیب را تا بیش از ۷۰ درصد کل پروتئین‌های محلول گیاه بالا می‌برد، استفاده از گیاهان برای تولید پپتیدهای نوترکیب به‌ویژه AMPها، موردتوجه ویژه پژوهش‌گران قرارگرفته است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

منابع

1. Bulet P, Hetru C, Dimarcq J-L, Hoffmann D. Antimicrobial Peptides in Insects; Structure And Function. Develop & Compar Immunol. 1999;23(4-5):329-44.

2. Malanovic N, Lohner K. Antimicrobial Peptides Targeting Gram-Positive Bacteria. Pharmaceuticals. 2016;9(3):59.

3. Rozek T, Wegener KL, Bowie JH, Olver IN, Carver JA, Wallace JC, et al. The Antibiotic And Anticancer Active Aurein Peptides From the Australian Bell Frogs *Litoria aurea* and *Litoria raniformis* The Solution Structure of Aurein 1.2. Eur J Biochem. 2000;267(17):5330-41.

4. Helynck G, Dubertret C, Mayaux JF, Leboul J. Isolation of RP 71955, A New Anti-HIV-1 Peptide Secondary Metabolite. J Antibiot (Tokyo). 1993;46(11):1756-7.

5. Osborn RW, De Samblanx GW, Thevissen K, Goderis I, Torrekens S, Van Leuven F, et al. Isolation and Characterisation of Plant Defensins From Seeds of Asteraceae, Fabaceae, Hippocastanaceae and Saxifragaceae. FEBS Lett. 1995;368(2):257-62.

6. Love MS, Millholland MG, Mishra S, Kulkarni S, Freeman KB, Pan W, et al. Platelet Factor 4 Activity Against *P. falciparum* and Its Translation to Nonpeptidic Mimics as Antimalarials. Cell host & microbe. 2012;12(6):815-23.

7. Rogozhin EA, Ryazantsev DY, Grishin EV, Egorov TA, Zavriev SK. Defense Peptides From Barnyard Grass (*Echinochloa crusgalli* L.) Seeds. Peptides. 2012;38(1):33-40.

8. Mohseni S, Emtenani S, Emtenani S, Asoodeh A. Antioxidant Properties of a Human Neuropeptide and Its Protective Effect on Free Radical-Induced DNA Damage. J Pept Sci. 2014;20(6):429-37.

9. Orivel J, Redeker V, Le Caer JP, Krier F, Revol-Junelles AM, Longeon A, et al. Ponericins, New Antibacterial and Insecticidal Peptides From the Venom of The Ant *Pachycondyla goeldii*. J Biol Chem. 2001;276(21):17823-9.

10. Charp PA, Rice WG, Raynor RL, Reimund E, Kinkade JM, Jr., Ganz T, et al. Inhibition of Protein Kinase C by Defensins, Antibiotic Peptides From Human Neutrophils. Biochem Pharmacol. 1988;37(5):951-6.

11. Silkin L, Hamza S, Kaufman S, Cobb SL, Vederas JC. Spermicidal Bacteriocins: Lacticin 3147 and Subtilosin A. Bioorg Med Chem Lett. 2008;18(10):3103-6.

12. Simonetti O, Cirioni O, Goteri G, Ghiselli R, Kamysz W, Kamysz E, et al. Temporin A is Effective in MRSA-Infected Wounds Through Bactericidal Activity and Acceleration of Wound Repair in a Murine Model. Peptides. 2008;29(4):520-8.

13. Kim C, Gajendran N, Mittrucker HW, Weiwad M, Song YH, Hurwitz R, et al. Human Alpha-Defensins Neutralize Anthrax Lethal Toxin and Protect Against its Fatal Consequences. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(13):4830-5.

14. Meng L, Xie Z, Zhang Q, Li Y, Yang F, Chen Z, et al. Scorpion Potassium Channel-blocking Defensin Highlights a Functional Link with Neurotoxin. J Biol Chem. 2016;291(13):7097-106.

15. Wei L, Yang J, He X, Mo G, Hong J, Yan X, et al. Structure and Function of a Potent Lipopolysaccharide-Binding Antimicrobial and Anti-Inflammatory Peptide. J Med Chem. 2013;56(9):3546-56.

16. Bowdish DM, Davidson DJ, Lau YE, Lee K, Scott MG, Hancock RE. Impact of LL- 37 on Anti-Infective Immunity. J Leukocyte Biol. 2005;77(4):451-9.

17. Elsbach P. What Is The Real Role of Antimicrobial Polypeptides That Can Mediate Several Other Inflammatory Responses? The J Clinic Invest. 2003;111(11):1643-5.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

18. Huan Y, Kong Q, Mou H, Yi H. Antimicrobial Peptides: Classification, Design, Application and Research Progress in Multiple Fields. Front Microbiol. 2020;11:582779.

19. Nguyen LT, Haney EF, Vogel HJ. The Expanding Scope of Antimicrobial Peptide Structures and Their Modes of Action. Trends Biotechnol. 2011;29(9):464-72.

20.Yu G, Baeder DY, Regoes RR, Rolff J. Combination Effects of Antimicrobial Peptides. Antimicrob Agent Chemotherap. 2016;60(3):1717-24.

21. Yeaman MR, Yount NY. Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance. Pharmacol Rev. 2003;55(1):27-55.

22. Zasloff M. Antimicrobial Peptides of Multicellular Organisms. Nature. 2002;415(6870):389.

23. Rai J, Randhawa GK, Kaur M. Recent advances in antibacterial drugs. Int J Appl Basic Med Res. 2013;3(1):3.

24. Spížek J, Novotná J, Řezanka T, Demain AL. Do We Need New Antibiotics? The Search for New Targets and New Compounds. J Indust Microbiol & Biotechnol. 2010;37(12):1241-8.

25. Boman H. Antibacterial Peptides: Basic Facts and Emerging Concepts. J Intern Med. 2003;254(3):197-215.

26. Merrifield RB. Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide. JACS. 1963;85(14):2149-54.

27. Ahmad M, Hirz M, Pichler H, Schwab H. Protein Expression in *Pichia pastoris*: Recent Achievements and Perspectives for Heterologous Protein Production. Appl Microbiol Biotechnol. 2014;98(12):5301-17.

28. Wang G. Antimicrobial Peptides: Discovery, Design and Novel Therapeutic Strategies: Cabi; 2017.

29. Li Y, Chen Z. RAPD: a database of recombinantly-produced antimicrobial peptides. FEMS Microbiol Let. 2008;289(2):126-9.

30. Ingham AB, Moore RJ. Recombinant Production of Antimicrobial Peptides in Heterologous Microbial Systems. Biotechnol Appl Biochem. 2007;47(1):1-9.

31. Li Y. Recombinant Production of Antimicrobial Peptides in *Escherichia coli*: A Review. Prot Exp Purif. 2011;80(2):260-7.

32. Cregg JM, Tolstorukov I, Kusari A, Sunga J, Madden K, Chappell T. Expression in the Yeast *Pichia pastoris*. Meth Enzymol. 463: Elsevier; 2009. p. 169-89.

33. Byrne L, O'Callaghan K, Tuite M. Pharmaceutical Proteins from Methylotrophic Yeasts. Methods in Molecular Biology: Humana Press New Jersey; 2005. p. 51-64.

34. Romanos MA, Scorer CA, Clare JJ. Foreign Gene Expression in Yeast: A Review. Yeast. 1992;8(6):423-88.

35. Mattanovich D, Branduardi P, Dato L, Gasser B, Sauer M, Porro D. Recombinant Protein Production in Yeasts. Recombinant gene expression: Springer; 2012. p. 329-58.

36. Fischer R, Stoger E, Schillberg S, Christou P, Twyman RM. Plant-Based Production of Biopharmaceuticals. Curr Opin Plant Biol. 2004;7(2):152-8.

37. Sindarovska Y, Gerasymenko I, Sheludko Y, Olevinskaya Z, Spivak N, Kuchuk N. Production of Human Interferon ALPHA 2b in Plants of *Nicotiana excelsior* by Agrobacterium-Mediated Transient Expression. Cytol Genet. 2010;44(5):313-6.

38. Larrick JW, Thomas DW. Producing Proteins in Transgenic Plants and Animals. Curr Opin Biotechnol. 2001;12(4):411-8.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

39. Lee JH, Ko K. Production of Recombinant Anti-Cancer Vaccines in Plants. Biomol & Therap. 2017;25(4):345.

40. Delaunois B, Cordelier S, Conreux A, Clément C, Jeandet P. Molecular Engineering of Resveratrol in Plants. Plant Biotechnol J. 2009;7(1):2-12.

41. Hernandez-Garcia CM, Bouchard RA, Rushton PJ, Jones ML, Chen X, Timko MP, et al. High Level Transgenic Expression of Soybean (*Glycine max*) GmERF and Gmubi Gene Promoters Isolated by a Novel Promoter Analysis Pipeline. BMC Plant Biol. 2010;10(1):237.

42. Vyacheslavova A, Berdichevets I, Tyurin A, Shimshilashvili KR, Mustafaev O, Goldenkova-Pavlova I. Expression of Heterologous Genes in Plant Systems: New Possibilities. Russ J Genet. 2012;48(11):1067-79.

43. Okamoto M, Mitsuhara I, Ohshima M, Natori S, Ohashi Y. Enhanced Expression of an Antimicrobial Peptide Sarcotoxin IA by GUS Fusion in Transgenic Tobacco Plants. Plant Cell Physiol. 1998;39(1):57-63.

44. Company N, Nadal A, Ruiz C, Pla M. Production of Phytotoxic Cationic Alpha-Helical Antimicrobial Peptides in Plant Cells Using Inducible Promoters. PLoS One. 2014;9(11):e109990.

45. Bundo M, Montesinos L, Izquierdo E, Campo S, Mieulet D, Guiderdoni E, et al. Production of Cecropin A Antimicrobial Peptide in Rice Seed Endosperm. BMC Plant Biol. 2014;14:102.

46. Patiño-Rodríguez O, Ortega-Berlanga B, Llamas-González YY, Flores-Valdez MA, Herrera-Díaz A, Montes-de-Oca-Luna R, et al. Transient Expression and Characterization of the Antimicrobial Peptide Protegrin-1 in *Nicotiana tabacum* for Control of Bacterial and Fungal Mammalian Pathogens. PCTOC. 2013;115(1):99-106.

47. Ghidey M, Islam SMA, Pruett G, Kearney CM. Making Plants into Cost-Effective Bioreactors for Highly Active Antimicrobial Peptides. NewBbiotechnol. 2020;56:63-70.

48. Mirzaee M, Holásková E, Mičúchová A, Kopečný DJ, Osmani Z, Frébort I. Long-Lasting Stable Expression of Human LL-37 Antimicrobial Peptide in Transgenic Barley Plants. Antibiotics. 2021;10(8):898.

49. Shanmugaraj B, Bulaon CJI, Malla A, Phoolcharoen W. Biotechnological Insights on the Expression and Production of Antimicrobial Peptides in Plants. Molecules. 2021;26(13).

50. Koop H-U, Herz S, Golds TJ, Nickelsen J. The Genetic Transformation of Plastids. Cell and molecular biology of plastids: Springer; 2007. p. 457-510.

51. Ahmadabadi M. Gen transfer into plastids: A Review on Complete Mechanism, Recent Advances and Existing Obstacles. Iran J Novel Genet. 2010;5(2):5-19.

52. Waheed MT, Ismail H, Gottschamel J, Mirza B, Lössl AG. Plastids: The Green Frontiers for Vaccine Production. Front Plant Sci. 2015;6:1005.

53. Lössl AG, Waheed MT. Chloroplast- Derived Vaccines Against Human Diseases: Achievements, Challenges and Scopes. Plant Biotechnol J. 2011;9(5):527-39.

54. Nojavan S, Ahmadabadi M, Pazhouhandeh M. Isolation and Cloning of Human Insulin-Like Growth Factor 1 (IGF1) cDNA in Chloroplast Transformation Vectors. WASET. 2011; 76:526-527.

55. Darabi S, Ramazani S, Ahmadabadi M. Cloning of Human Insulin-Like Growth Factor Gene in Plant Expression Vectors. Agricul Biotechnol J. 2017;9(1):15-30.

56. Daniell H, Khan MS, Allison L. Milestones in Chloroplast Genetic Engineering: an Environmentally Friendly Era in Biotechnology. Trends Plant Sci. 2002;7(2):84-91.

57. Staub JM, Garcia B, Graves J, Hajdukiewicz PT, Hunter P, Nehra N, et al. High-Yield Production of a Human Therapeutic Protein in Tobacco Chloroplasts. Nat Biotechnol. 2000;18(3):333-8.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

58. Daniell H, Ruiz G, Denes B, Sandberg L, Langridge W. Optimization of Codon Composition and Regulatory Elements for Expression of Human Insulin Like Growth Factor-1 in Transgenic Chloroplasts and Evaluation of Structural Identity and Function. BMC Biotechnol. 2009;9:33-.

59. Ahmadabadi M. Transfer and Expression of Native Human Insulin-Like Growth Factor-1 in Tobacco Chloroplasts. Iran J Biotechnol. 2021;19(4):14-21.

60. Nadai M, Bally J, Vitel M, Job C, Tissot G, Botterman J, et al. High-Level Expression of Active Human Alpha1-Antitrypsin in Transgenic Tobacco Chloroplasts. Transgenic Res. 2009;18(2):173-83.

61. Daniell H, Lee SB, Panchal T, Wiebe PO. Expression of the Native Cholera Toxin B Subunit Gene and Assembly as Functional Oligomers in Transgenic Tobacco Chloroplasts. J Mol Biol. 2001;311(5):1001-9.

62. Tregoning JS, Nixon P, Kuroda H, Svab Z, Clare S, Bowe F, et al. Expression of Tetanus Toxin Fragment C in Tobacco Chloroplasts. Nucleic Acids Res. 2003;31(4):1174-9.

63. Watson J, Koya V, Leppla SH, Daniell H. Expression of *Bacillus anthracis* Protective Antigen in Transgenic Chloroplasts of Tobacco, a non-food/feed crop. Vaccine. 2004;22(31-32):4374-84.

64. DeGray G, Rajasekaran K, Smith F, Sanford J, Daniell H. Expression of an Antimicrobial Peptide Via the Chloroplast Genome to Control Phytopathogenic Bacteria and Fungi. Plant Physiol. 2001;127(3):852-62.

65. Oey M, Lohse M, Kreikemeyer B, Bock R. Exhaustion of the Chloroplast Protein Synthesis Capacity by Massive Expression of a Highly Stable Protein Antibiotic. Plant J. 2009;57(3):436-45.

66. Lee SB, Li B, Jin S, Daniell H. Expression and Characterization of Antimicrobial Peptides Retrocyclin-101 and Protegrin-1 in Chloroplasts to Control Viral and Bacterial Infections. Plant Biotechnol J. 2011;9(1):100-15.

67. Zhong B, Xi Z, Goremykin VV, Fong R, McLenachan PA, Novis PM, et al. Streptophyte Algae and the Origin of Land Plants Revisited Using Heterogeneous Models With Three New Algal Chloroplast Genomes. Mol Biol Evol. 2014;31(1):177-83.

68. Broz A, Huang N, Unruh G. Plant-Based Protein Biomanufacturing. Genetic Engineering & Biotechnol News. 2013;33(4).

69. Zhang B, Shanmugaraj B, Daniell H. Expression and Functional Evaluation of Biopharmaceuticals Made in Plant Chloroplasts. Curr Opin Chem Biol. 2017;38:17-23.

70. Strasser R, Altmann F, Mach L, Glössl J, Steinkellner H. Generation of *Arabidopsis thaliana* Plants With Complex N- Glycans Lacking β1, 2- Linked Xylose and Core α1, 3- linked fucose. FEBS Let. 2004;561(1-3):132-6.

71. Loos A, Steinkellner H. Plant Glyco-Biotechnology on the Way to Synthetic Biology. Front Plant Sci. 2014;5:523.

72. Rivero M, Furman N, Mencacci N, Picca P, Toum L, Lentz E, et al. Stacking of Antimicrobial Genes in Potato Transgenic Plants Confers Increased Resistance to Bacterial and Fungal Pathogens. J Biotechnol. 2012;157(2):334-43.

73. Streatfield SJ. Approaches to Achieve High-Level Heterologous Protein Production in Plants. Plant Biotechnol J. 2007;5(1):2-15.

74. Nuttall J, Vine N, Hadlington JL, Drake P, Frigerio L, Ma JKC. ER–Resident Chaperone Interactions With Recombinant Antibodies in Transgenic Plants. Eur J Biochem. 2002;269(24):6042-51.

75. Ma JK, Drake PM, Christou P. The Production of Recombinant Pharmaceutical Proteins in Plants. Nat Rev Genet. 2003;4(10):794-805.

76. bembe OO, Popoola JO, Leelavathi S, Reddy SV. Advances in Plant Molecular farming. Biotechnol Adv. 2011;29(2):210-22.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]

77. Keese P. Risks from GMOs due to Horizontal Gene transfer. Environ Biosafety Res. 2008;7(3):123-49.

78. Holaskova E, Galuszka P, Frebort I, Oz MT. Antimicrobial Peptide Production and Plant-Based Expression Systems for Medical and Agricultural Biotechnology. Biotechnol Adv. 2015;33(6):1005-23.

79.Pelegrini PB, Lay FT, Murad AM, Anderson MA, Franco OL. Novel Insights on the Mechanism of Action of α- Amylase Inhibitors from the Plant Defensin Family. Proteins. 2008;73(3):719-29.

80. Gao A-G, Hakimi SM, Mittanck CA, Wu Y, Woerner BM, Stark DM, et al. Fungal Pathogen Protection in Potato by Expression of a Plant Defensin Peptide. Nat Biotechnol. 2000;18(12):1307.

81. Allefs SJ, De Jong ER, Florack DE, Hoogendoorn C, Stiekema WJ. Erwinia Soft Rot Resistance of Potato Cultivars Expressing Antimicrobial Peptide Tachyplesin I. Mol Breed. 1996;2(2):97-105.

82. Ramessar K, Capell T, Christou P. Molecular Pharming in Cereal Crops. Phytochem Rev. 2008;7(3):579-92.

83. Bundó M, Montesinos L, Izquierdo E, Campo S, Mieulet D, Guiderdoni E, et al. Production of Cecropin A Antimicrobial Peptide in Rice Seed Endosperm. BMC Plant Biol. 2014;14(1):102.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.47.4.1]