مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره ۶، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۶
صفحه ۱۸۸-۱۷۵

مروری بر مهندسی ژنتیک سیب زمینی تاکنون

مقصود پژوهنده*، غزل کاروان، عاطفه سادات رضوی

A review on potato genetic engineering researches yet

Maghsoud Pazhouhandeh* Ghazal Karvan and Atefeh-Sadat Razavi

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

Biotechnology Dept. Agriculture Fac. Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, IRAN

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: pazhouhandeh@azaruniv.edu

کاروان و رضوی به اندازه یکسان در تهیه مطالب مقاله نقش دارند.

Karvan and Razavi contributed equally to this study.

(تاریخ دریافت: ۸/ ۹۵/۱۲- تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۱۹)

چکیده

سیب زمینی با نام علمی *Solanum tuberosom* گیاهی یکساله از خانواده Solanaceae و یکی از گیاهان مهم زراعی و غذایی می باشد. این مقاله مروری است بر تحقیقات مهندسی ژنتیک که روی این محصول از قدیم تاکنون صورت گرفته است. گیاهان مختلف تراریخته سیب زمینی که به منظور بهبود ویژگی های زراعی و سازگاری آن به محیط، ایجاد مقاومت نسبت به تنشهای زیستی و غیر زیستی، ایجاد مقاومت نسبت به پاتوژنهای قارچی و باکتریایی و ویروسها، ایجاد مقاومت در برابر آفات، تولید پروتئین های نوترکیب، تولید واکسنهای خوراکی تولید شده اند توصیف می شوند.

واژه‌های کلیدی

بیوتکنولوژی
تراریخته
سیب زمینی
مهندسی ژنتیک

مقدمه

سیب‌زمینی با نام علمی *Solanum tuberosom* گیاهی یکساله از تیره Solanaceae، تتراپلوییید، دارای ساقه‌های بلند سبز رنگ و یا بدلیل ذخیره آنتوسیانین، سبز مایل به قهوه‌ای، با برگهای بزرگ و مرکب کرکدار، با گلهای سفید، قرمز یا ارغوانی، میوه بصورت کروی، گوشتی، حاوی آلکالوئید سولانین و مقدار زیادی بذر است. ژنوم سیب‌زمینی‌های رایج زراعی بصورت 2n=4x=48 از تعداد پایه ۱۲ کروموزوم تشکیل شده است. توالی‌یابی سیب‌زمینی در سال ۲۰۱۱ تکمیل و توسط Potato Genome Sequencing Consortium (PGSC) در Nature منتشر شد (PGSC 2011). اندازه ژنوم آن به ۸۴۴ مگاباز تخمین زده می‌شود. ارقام سیب-زمینی معمولا به وسیله صفاتی چون، زمان رسیدگی (زودرس، متوسطرس، دیررس) رنگ پوست غده (سفید، خرمایی، زرد، قرمز) بافت پوست غده (صاف، زبر) رنگ قسمت گوشتی (سفید، کرم، زرد)، شکل غده (گرد، تخم‌مرغی، دوکی، کشیده)، محتوای مواد غده و غیره دسته‌بندی می‌شوند Hijmans and Spooner (2001). سیب‌زمینی سرشار از بتاکاروتن (پیش ساز ویتامین آ) است که وقتی پخته می‌شود به آسانی جذب بدن می‌شود. بیشترین پروتئین ذخیره‌ای سیب‌زمینی Patatin بوده و مهم‌ترین ماده اصلی موجود در سیب‌زمینی نشاسته است که معمولاً ۲۵ تا ۹۰ درصد آن را تشکیل می‌دهد (Barrell et al, 2013). از این رو اهمیت اقتصادی زیادی برای تأمین انرژی از نظر مواد غذایی و صنعتی دارد و سال ۲۰۰۸ بنام سال جهانی سیب‌زمینی نامگذاری شده بود و همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است و یافته های علمی آن در سایر گیاهان نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. متابولیسم کربوهیدراتها، تعامل هورمنها در تشکیل غده‌ها، کشت بافت گیاهی برای نگهداری ژرم‌پلاسم سیب‌زمینی و ایجاد گیاهان عاری از بیماری، روشهای انتقال ژن به گیاه، ایجاد مقاومت در سیب-زمینی نسبت به شرایط محیطی نامطلوب از جمله انواع تنشها (خشکی، شوری، دمای بالاو غیره) و همچنین انواع بیشماری از پاتوژن‌ها مهمترین پژوهشهای انجام شده در این گیاه هستند (Barrell et al, 2013; Watanabe 2015; Kikuchi et al, 2015).

مطابق آمار FAO مهمترین کشورهای تولید کننده سیب‌زمینی در جهان به ترتیب چین (حدود یکصد میلیون تن محصول در سال ۲۰۱۳)، هند، روسیه، اکراین، آمریکا و آلمان هستند. ایران سیزدهمین تولید کننده سیب‌زمینی جهان است. برطبق آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۵ در ایران ۱۵۹ هزار هکتار سیب‌زمینی کشت شده و حدود پنج میلیون تن محصول برداشت شده است و متوسط عملکرد آن در کشور حدود ۳۰ تن در هکتار می‌باشد. همدان، اردبیل، اصفهان و آذربایجان شرقی مهمترین استانهای تولید کننده سیب‌زمینی کشور هستند.

سیب‌زمینی یکی از گیاهان موفق در اصلاح نباتات و به‌نژادی بوده است. چون روشهای معمول و کلاسیک اصلاح زمان‌بر و در مورد ژنوم سیب‌زمینی مشکل می‌باشد لذا مهندسی ژنتیک آن نسبت به سایر گیاهان زودتر و بیشتر مورد توجه بوده است (An et al., 1986; Shahin and Simpson 1986). گیاه تراریخته به گیاهی اطلاق می‌شود که ساختار ژنتیکی آن از طریق مهندسی ژنتیک بهبود یافته باشد. این تغییر معمولاً جهت بهبود مقاومت گیاه به برخی آفات یا بیماریهای گیاهی و برای بهبود عملکرد گیاه و بهره‌وری کشاورزی صورت می‌گیرد. بهبود کنترل علف های هرز، کاهش آفات و بیماری‌های گیاهی، کاهش فساد پس از برداشت محصول و افزایش مدت نگهداری، افزایش کیفیت محصول مزایای استفاده از این تکنولوژی است که سبب ایجاد کشاورزی پایدار و محیط پایدار می‌شود (Shaji et al. 2005). استفاده از این تکنولوژی نه تنها در بهبود صفات زراعی موثر است بلکه می‌تواند در تولید داروهای مختلف و ترکیبات شیمیای خاص مورد استفاده قرار گیرند. پیشرفت‌های بیوتکنولوژی، گیاهان را قادر کرده که به عنوان بیوراکتور جهت تولید پروتئینها، چربیها و کربوهیدراتها به کار گرفته شوند و مبحثی تحت عنوان زراعت مولکولی مطرح شده است. گیاهان به سادگی و با روشهای طبیعی تراریخته می‌شوند و مسیر ساخت پروتئین و تغییرات پس از ترجمه در آنها مشابه سلولهای جانوری است، محدودیتی در اندازه ژن برای انتقال نداشته و راهکارهای متنوعی مثل استفاده از پپتیدهای نشانه و پروموترهای مختص اندام یا بافت برای تجمع پروتئینهای نوترکیب در آنها وجود دارد. با گسترش علم مهندسی ژنتیک و تولید گیاهان تراریخت، دانشمندان در بین گیاهان مورد توجه در عرصه بیوتکنولوژی، سیب‌زمینی را به دلیل داشتن مزایایی همچون قابلیت گیاه به عنوان یکی از میزبان‌های باکتری آگروباکتریوم جهت انتقال ژن و از طرفی بخاطر بازده مطلوب آن، سهولت تکثیر و باززایی از کشت بافت، قابلیت تکثیرغیرجنسی، دوره زمانی کوتاه تا تولید محصول، تولید بیوماس زیاد، وجود پروموترهای مختلف جهت بیان ژن در قسمت های مختلف گیاه، قابلیت نگهداری و انبارکردن این محصول و استفاده از غده‌های خام به صورت مستقیم و خوراکی

در صورت تولید واکسن قابل توجه دانسته و مورد استفاده قرار داده‌اند (Ofoghi et al. 2012). رایج ترین روش انتقال ژن به سیب‌زمینی روش استفاده از آگروباکتریوم (استرینهای AGL0 و LBA4404)، رایج‌ترین ژن انتخابگر ژن *nptII* مقاومت به کانامایسین و در مقام بعدی ژن مقاومت به هیگرومایسن و بهترین ریزنمونه برای تراریزش، قطعات میانگره ساقه‌ها گزارش شده‌اند (Barrell et al, 2013). در زیر انواع پژوهشهای مهندسی ژنتیک انجام شده روی این گیاه با تاکید بر تحقیقات انجام یافته در ایران دسته‌بندی شده‌اند.

۱- بهبود ویژگی‌ها و ایجاد مقاومت نسبت به تنش‌های محیطی و پاتوژنها

از بیماریهای مهم سیب‌زمینی در ایران می‌توان به بیماریهای مرگ ریشه ، پوسیدگی خشک، بوته میری، سفیدک داخلی و ویروسهای سیب‌زمینی اشاره نمود. ایجاد مقاومت اختصاصی به ویروس با روشهای بیوتکنولوژیکی امیدهایی برای کاهش خسارت ویروسها در سیب‌زمینی فراهم کرده است (Fateri Rezvani et al, 2016). ویروسX سیب‌زمینی از ویروسهای بسیار مهم با دامنه میزبانی وسیع می‌باشد که باعث کاهش قابل توجه عملکرد این محصول در سراسر دنیا می‌شود. این ویروس گسترش بسیار زیادی دارد و در هر جایی که سیب‌زمینی کاشت می‌شود وجود دارد. برخی از ارقام سیب‌زمینی کاملا به این ویروس آلوده اند. کاهش محصول به وسیله این ویروس ۱۰ تا ۲۵ درصد گزارش شده است. علایم می‌تواند از حالت بدون علایم تا موزائیک و کوتولگی و پیچیدگی برگ شدید باشد. این ویروس از طریق عصاره و غده و تماس شاخ و برگ منتقل می‌شود. می‌توان برای ایجاد مقاومت سیب‌زمینی به این ویروس از روش پروتئین‌های ممانعت کننده مکانیسم خاموشی بیان ژن RNA (Silencing) استفاده کرد (Pazhouhandeh et al, 2006, Bortolamiol et al, 2007). برای این منظور DNA تولید کننده ساختار سنجاق سری یک قطعه از ژن P25 ویروس PVX با آگروباکتریوم به گیاه سیب‌زمینی رقم آگریا منتقل گردید (Fateri Rezvani et al, 2016). در تحقیقی مشابه مقاومت به PVX در توتون با این روش ایجاد شد (Sajadi et al, 2016). در مطالعه دیگری برای ایجاد مقاومت به ویروس PLRV در سیب‌زمینی از سازه سنجاق سری P0 این ویروس استفاده شد و به گیاه سیب-زمینی منتقل گردید. گیاهان تراریخت مقاومت خوبی به این ویروس نشان دادند. (Fateri Rezvani et al, 2012). برای ایجاد مقاومت به ویروس PVY هم گیاهان سیب‌زمینی تراریخت با سازه سنجاق سری متشکل از چهار قطعه (CI، CP، NIb و HC-Pro) از این ویروس ایجاد شد و مقاومت قابل ملاحظه‌ای به PVY در این گیاهان بدست آمد (Hezareh et al, 2017). این سازه‌ها با القاء تولید siRNAهای ویروسی در سیب‌زمینی، دفاع همیشگی ضدویروسی را ایجاد می‌کند و می‌توان از این روش برای ایجاد مقاومت در تمامی گیاهان زراعی و باغی استفاده کرد. ژنهای مقاومت زیادی در ژنوم خود سیب‌زمینی خصوصا برای ویروسهای PVY و PVX شناسایی و در برخی موارد از آنها برای ایجاد مقاومت در سایر گیاهان استفاده شده است از جمله ژن *R* که علاوه بر ویروسها عامل مقاومت به ۸۲ نوع بیماری و آفت در سیب‌زمینی می‌باشد. تنوع ژنهای مقاومت به PVY در این گیاه به عنوان مارکرهای مولکولی در نقشه ژنی آن مطرح می‌باشد و یکی از مهمترین ژنهای مقاومت به PVY در سیب‌زمینی *Ry* است که تنها با یک الل غالب مقاومت خوبی ایجاد می‌کند. ژن *Ny* نیز در سیب‌زمینی باعث مقاومت از نوع Hypersensitive به این ویروس می‌شود (Watanabe 2015). نقشه ژنی و مارکرهای مولکولی سیب‌زمینی در مقاله مروری Watanabe بخوبی توصیف شده است.

از بیماری های دیگر سیب‌زمینی آلودگی به پاتوژن‌های قارچی می‌باشد. قارچهای بیماریزا ازمهمترین عوامل ایجاد خسارت به محصول سیب‌زمینی در ایران و جهان می‌باشند. یکی از روش های کنترل بیماریهای قارچی، استفاده از مهندسی ژنتیک برای انتقال ژنهای رمزکننده آنزیم‌های تخریب کننده دیواره سلولی قارچها به گیاهان زراعی می‌باشد. قارچ‌های آنتاگونیست مانند تریکودرما، با تولید آنزیم‌های هیدرولازی قدرتمند مثل کیتیناز و گلوکاناز، اثر بازدارنده قابل توجهی بر رشد قارچهای بیماریزا دارند. آنزیم‌های جدا شده از گونه‌های مختلف این قارچ در مقایسه با آنزیمهای جدا شده از منابع دیگر مثل آنزیم‌های گیاهی، فعالیت ضد قارچی بیشتری داشته و بر طیف وسیعتری از گونه‌های بیماریزا عمل می‌کنند (Esfahani et al, 2011; Shirzad et al, 2012). یکی از راه‌های ایجاد مقاومت به پاتوژن‌های قارچی استفاده از ژن‌های کیتیناز و گلوکاناز قارچ *Trichoderma virens* می‌باشد. این ژن تحت کنترل پیشبر CaMV35S و خاتمه دهنده نوپالین سینتاز (NOS) با استفاده از *Agrobacterium tumefaciens* به سیب‌زمینی منتقل شد. حضور ژن مورد نظر در گیاهان تراریخته و بیان آن توسط RT-PCR مشخص شد و روشهای زیست سنجی مختلف نشان داد که گیاهان تراریخته

خاصیت ضد قارچی قابل ملاحظه‌ای در برابر پاتوژن رایزوکتونیا دارند (Esfahani et al, 2011). در یک مطالعه ژن گلوکزاکسیداز (GOX) از قارچ *Penicillium foeniculsum* به سیب‌زمینی منتقل شد. نتایج مولکولی و تراریختی نشان داد که گیاهان تراریخت با پلاسمید در جهت سنس به بیماری لکه موجی (early Blight) با عامل قارچی *Alternaria solani* مقاوم می‌باشند (Sheikh Jabai N and Garousi Gh, 2013).

درخصوص ایجاد مقاومت به نماتد سیست Globodera، گیاهان تراریخته سیب‌زمینی بیان کننده ژن Cysteine proteinase inhibitor (Cystatin) از برنج ایجاد شدند (Urwin 2001 and 2003). تحقیقات روی این گیاهان تراریخته نشان داد که کاربرد آنها هیچ ضروری روی موجودات غیرهدف در طبیعت و انسان ندارد اما جریان ژن به دیگر سیب‌زمینی‌های غیرتراریخت موجود ممکن است روی دهد و راه حل نرعقیمی برای عدم جریان ژن از گیاهان تراریخته به گیاهان معمولی پیشنهاد شد (Celis et al, 2004).

یکی از راههای تولید گیاهان تراریخته استفاده از راه اندازهای متنوعی است که در گیاهان وجود دارد. راه انداز برای رونویسی یک ژن ضروری است و کنترل بیان ژنها را در سطح رونویسی انجام می‌دهد. به خاطر مشکلات پروموترهای عمومی از جمله بیان ترانسژن مورد نظر به مقدار نامناسب و در زمان و بافت نادرست در گیاه، پروموترهای اختصاصی بافتی در سیب زمینی نیز بخوبی شناسایی و رواج یافته اند (Saedi et al, 2011). به منظور پاسخ به پاتوژنهای قارچی پروموتر ژن *Germin-like protein (2OsRGLP2)* از برنج در گیاه سیب‌زمینی بیان شد. از ژن گزارشگر (*β-glucuronidase GUS*) و اگروباکتریوم برای انتقال استفاده شد. این پروموتور برنج در پاسخ به قارچ *Fusarium solani* فعال شد. نتایج Real-Time PCR نشان داد که به دنبال بیماری، فعالیت پروموتور چهار تا پنج برابر افزایش یافت. یک افزایش ۱۵ برابر در فعالیت این پروموتور بعد از ۷۲ ساعت از آلودگی به قارچ *F. solani* مشاهده شد. نتایج تایید کرد که فعالیت پروموتر OsRGLP2 تحت تنشهای قارچی افزایش می‌یابد (Munir et al, 2016).

بید سیب‌زمینی یکی از مهمترین و زیان بارترین آفات سیب زمینی در دنیا است. این آفت با آلودگی و تغذیه از بوته ها و غده‌های سیب‌زمینی در مزارع و انبارهای نگهداری سیب‌زمینی، تولید سیب‌زمینی را از نظر کمی و کیفی به شدت کاهش می‌دهد. پروتئین crystal (CRY) متعلق به *Bacillus thuringiensis* (Bt) باعث مقاومت به حشرات و آفات می‌شود و در واقع نوعی سم حشره‌کش طبیعی است و جزو اولین ژنهایی است که به گیاهان از جمله سیب‌زمینی در دنیا انتقال یافته است(Perlak et al, 1993) . شرکت Monsanto سیب زمینی تراریخته با *Cry3A* مقاوم به سوسک کلرادو (*Leptinotarsa decemlineata*) را بنام NewLeaf در سال ۱۹۹۹ معرفی کرد. انتقال سایر ژنهای Cry هم به سیب‌زمینی صورت گرفته است (Barrell et al, 2013). پروتئین Cry1Ab تحت پیشبرPEPC به میزان کافی در بافتهای سبز گیاه سیب‌زمینی تراریخت مشاهده و باعث مقاومت این گیاه نسبت به بید سیب‌زمینی شد (Mirrokni et al, 2014).

گیاهان سیب‌زمینی تراریخته با بیان بیشینه ژنهای *Serine protease inhibitors (PI: Pin1 and Pin2)* متعلق به سیب‌زمینی موجب ایجاد مقاومت به آفات، باکتریها و قارچها شده و برخی صفات فیزیولوژیکی (پاسخ به کم آبی، تراکم تریکومها، شاخه-زایی، مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده) در آنها بهبود یافت Turra (and Lorito 2011).

ارقام تجاری سیب‌زمینی بسیار مستعد ابتلا به بسیاری از بیماریهای قارچی و باکتریایی است. در این میان پژمردگی باکتریایی ناشی از باکتری *Ralstonia solanacearum* باعث از دست رفتن عملکرد قابل توجه محصول است. با استفاده از روش پروتئومیکس و ژنومیکس ژن مقاوم در برابر این پژمردگی باکتریایی گزارش شد. این پروتئین ها شامل پروتئین متصل به RNAو غنی از گلایسین (GRP) ، پروتئین تولیدی در زمان استرس گوجه فرنگی، پروتئینهای وابسته به پاتوژن (STH2) و RS (PPR) بوده و در تحمل به تنش باکتری *R. solanacearum* در سیب‌زمینی دخالت دارند (Park et al, 2016). انتقال ژن EFR متعلق به آرابیدوپسیس باعث ایجاد مقاومت کامل به این باکتری در سیب‌زمینی شد (Boschi et al, 2017).

علف های هرز یکی از محدود کننده‌های کشت محصولات هستند که در رقابت با محصول یا با خاصیت بازدارندگی از رشد آن، باعث کاهش عملکرد محصول می‌شوند و مبارزه با آنها با وجین دستی یا سموم علف‌کش اختصاصی در طول فصل باعث افزایش هزینه تولید می‌شود. محققان با استفاده از یک ژن باکتریایی (ژن bar یا فسفینوتریسین استیل ترانسفراز) و انتقال آن به سیب‌زمینی موفق شده‌اند گیاهان تراریخته سیب‌زمینی ایجاد کنند که مقاوم به علف‌کش عمومی Basta با ماده موثره

فسفینوتریسین (PPT) هستند و یکبار کاربرد این علف‌کش عمومی در کشت این گیاهان سیب‌زمینی باعث از بین رفتن تمام علفهای هرز باریک و پهن برگ مزرعه می‌شود و در این میان سیب‌زمینی به رشد خود ادامه داده و در رقابت با علفهای هرز پیروز میگردد. این گیاهان از طرفی باعث کاهش دفعات سمپاشی علف کشها یا وجین در طول فصل شده و بنابراین هزینه تولید کاهش می‌یابد و از طرفی چون علف‌کش عمومی در ابتدای کشت این گیاهان سیب‌زمینی استفاده می‌شود بنابراین تا زمان برداشت باقیمانده این سم در سیب‌زمینی تجزیه شده و محصول سالم‌تری از لحاظ باقیمانده سموم نتیجه می‌دهند Mamipour and (Pazhouhandeh 2016).

محققان با استفاده از miRNA مصنوعی از تنش خشکی در سیب‌زمینی جلوگیری کردند. آنها با استفاده از amiRNA یا microRNA ژن *CBP80/ABH1* را در سیب‌زمینی خاموش نمودند. گیاهانی که سطح کمتری از *CBP80/ABH1* را دارند تحمل بالاتری را نسبت به شرایط کمبود آب دارا می‌باشند. در این تحقیق توضیح داده شد که چگونه می‌توان amiRNA را با استفاده از پلت فرم‌های میکرو RNA طراحی و چگونه می‌توان گیاهان سیب‌زمینی تراریخته مقاوم با آن ایجاد کرد (Wyrzykowska et al, 2016).

در تحقیقی برای ایجاد مقاومت به شوری در سیب‌زمینی از ژن *AtSOS3* مربوط به آرابیدوپسیس استفاده شد و با آگروباکتریوم به قطعات میانگره‌های سیب‌زمینی منتقل و گیاهان تراریخته سیب‌زمینی مقاوم به ۲۰۰ میلی مولار نمک NaCl در بررسی‌های درون شیشه‌ای و هیدروپونیک بدست آمد (Motamed and Pazhouhandeh 2016; Valikhanlou et al, 2017).

برای تحمل به تنش دمای بالا از ژن CBF3 از گیاه مدل آرابیدپسیس تالیانا در سیب‌زمینی استفاده شد. نتایج نشان داد که درجه حرارت بالای ۴۰ درجه سانتی گراد می‌تواند باعث بیان این ژن شود. پس از استرس حرارتی، نرخ خالص فتوسنتز (PN) و بهره‌وری فتوشیمیایی در گیاهان تراریخته نسبت به نوع وحشی بالاتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که گیاهان سیب‌زمینی با بیان ژن *AtCBF3* قادر به تحمل درجه حرارت بالا هستند (Dou et al, 2015).

۲- اصلاح صفات فیزیولوژیک سیب زمینی

خانواده Annexins یک گروه پروتئین‌های متصل به غشا و کلسیم هستند که با استرس اکسیداتیو مقابله می‌کنند و باعث حفظ هموستازی و تحمل گیاه نسبت به شرایط نامطلوب محیطی می‌شود. با هدف افزایش تحمل به خشکی و کاهش استرس نور در سیب‌زمینی، ژن انکسین به نام *STANN1* وارد سیب‌زمینی شد تا عملکرد محصول را در طول خشکسالی بهبود بخشد. mRNA ژن *STANN1* در سطح بالا و در شرایط خشکی بیان شد. گیاهان حاصل قادر به حفظ موثر فتوسنتز در خشکسالی بودند (Szalonek et al, 2015).

محققان از طریق بیان ژن *UDP-Glc 4-epimerase* پلی ساکارید دیواره سلولی را در سیب‌زمینی تغییر دادند. این ژن باعث تبدیل UDP-glucose به UDP-galactose می‌شود. گیاهان تراریخته با مقادیر متفاوت بالا و پایین محتوای گالاکتوز بدست آمدند (Huang et al, 2016b).

مهندسی ژنتیک و انتقال ژن *Flowering Locus T (FT)* به رقمی از سیب‌زمینی که در روزهای کوتاه غده‌زایی می‌کند باعث غده‌زایی آن در شرایط روز بلند شد و با استفاده از اطلاعات FT ژنی در سیب‌زمینی شناسایی شد بنام *StSP6A* که عامل شروع غده‌زایی در انتهای استولونها می‌باشد (Navarro et al, 2011).

آکریل آمید تولید شده در زمان سرخ کردن سیب‌زمینی یک ماده خطرناک سرطانزا برای انسان محسوب می‌شود. در یک مطالعه به کمک RNA Silencing میزان بیان ژن *Asparagine Synthetase-1* را در غده سیب‌زمینی کاهش دادند که باعث تولید کمتر آسپاراژین و در نتیجه کاهش میزان آکریل آمید آن شد (Chawla et al, 2012).

محققان سیب‌زمینی تراریخته‌ای با استفاده از ژن *AtMYB12* تولید کردند که باعث افزایش ۳/۳۵ برابری caffeoylquinic acids و ۴/۵ برابری فلاونولها شد. تجمع این دو ماده ظرفیت آنتی اکسیدانی را نسبت به تیپ وحشی دو برابر افزایش داد. در نتیجه غده حاصل از این سیب‌زمینی تراریخته بدون نشانگر خواص آنتی اکسیدانی بالایی دارد (Li et al, 2016).

سیب‌زمینی یکی از صیفی‌جاتی است که ضمن دارا بودن مواد مغذی مورد نیاز بدن، به طور طبیعی درصدی مواد سمی به نام سولانین در پوست و زیر پوست آن وجود دارد. محققان دریافتند با استفاده از سه ژن *SGT1, SGT2 ,SGT3* که بیوسنتز

گلیکوالکالوئید را تنظیم می‌کند مقدار این ماده سمی ناخواسته را کاهش دهند. در مقایسه با کنترل تیپ وحشی، نه تنها تغییرات مورد انتظار در سطح گلیکوآلکالوئید خاص بلکه تغییرات قابل توجهی در متابولیتهای دیگر در گیاهان تراریخته نشان داده شد (Shepherd and etal, 2015).

۳- تولید پروتئین نوترکیب و ایمن سازی

در دنیای امروز تقاضا برای داروهای زیستی روز به روز در حال افزایش می‌باشد و چون قیمت این داروها، فراوانی آنها را محدود می‌کند، لازم است سیستم‌هایی توسعه یابند که بتوانند داروهای زیستی را با قیمت مناسب در اختیار مصرف کنندگان قرار دهند. از آنجائیکه یک ژن می‌تواند در سیستم‌های گوناگونی بیان شود، بنابراین تعیین سیستمی با بیشترین بازده تولید پروتئین-های نوترکیب امری ضروری می‌باشد. تعیین بهترین سیستم بیان کننده پروتئین‌های نوترکیب یکی از مباحث مهم در بیوتکنولوژی می‌باشد. یک سیستم بیان کننده پروتئین‌های نوترکیب باید بتواند مواد زیستی را با بیشترین فعالیت بیولوژیکی و ایمنی و کمترین هزینه تولید کند. در حال حاضر بعضی از شرکت های معروف برای تولید پروتئین‌های نوترکیب از سیستم‌های فرمانتاسیون باکتریها (مانند *E. coli*) یا سلول پستانداران (مانند سلول های تخمدان موش) استفاده می‌کنند. اما این سیستمها دارای محدودیت‌هایی می‌باشند. سیستم‌های بیانی که جهت تولید پروتئین‌های نوترکیب از سلولهای پستانداران استفاده می‌کنند، فرآورده‌هایی را به وجود می‌آورند که کاملاً مشابه نوع طبیعی آنها در بدن انسان است. اما چون کشت این سلولها گران تمام می‌شود، این سیستم در مقیاس محدود قابل اجرا است. کاربرد میکروارگانیسم ها مانند باکتری ها باعث می‌شود که پروتئین‌های نوترکیب در مقیاس وسیع تولید شوند اما مهمترین مشکل این سیستمها این است که فرآورده‌های حاصل به طور محسوسی با فرآورده‌های طبیعی انسانی اختلاف دارند. برای مثال، پروتئین‌هایی که معمولاً در انسان گلیکوزیله می‌شوند، به وسیله باکتریها گلیکوزیله نمی‌گردند (Daniell et al, 2001) زیرا باکتریها فاقد امکانات سلولهای یوکاریوتی جهت انجام اصلاحات پس از ترجمه می‌باشند. پردازش پس از ترجمه برای فعالیت زیستی تعداد زیادی از پروتئین‌های انسانی از جمله آنتی‌بادیها لازم است Cramer et al, 1998). گیاهان تراریخته جایگزین مناسبی برای سیستم‌های رایج بیان کننده پروتئین‌های نوترکیب مانند کشت سلولهای جانوری و پروکاریوتی می‌باشند (Amini, 2012). بنابراین در مسیر مشابهی می‌توان گیاهان تراریخته‌ای بوجود آورد که می‌توانند پروتئین‌های صنعتی و دارویی مورد نیاز انسان را بیان کنند. تعداد زیادی از پروتئین‌های انسانی از قبیل پروتئین‌های سرم خون، سیتوکین‌ها، آنزیم‌های لیزوزومی، آنتی‌بادیها، واکسن‌ها و سایر پروتئین‌های دارای خواص دارویی را می‌توان در گیاهان تراریخته تولید کرد. آزمایش‌های پزشکی نشان می‌دهند که پروتئین‌های تولید شده در گیاهان از نظر فعالیت‌های زیست شناختی و ساختمانی با پروتئین‌های مشابه که از سیستم‌های کشت سلولهای انسانی و حیوانی بدست آمده‌اند، قابل مقایسه می‌باشند. در این گزارش ضمن بررسی اجمالی موضوع، سعی شده است درباره آخرین پیشرفت‌ها و نگرانی‌های موجود در زمینه تولید آنتی‌بادی-های نوترکیب در گیاهان بحث شود.

تولید واکسن خوراکی

در حال حاضر پژوهشگران در تلاش هستند تا با استفاده از بیوتکنولوژی، تغییراتی در گیاهان ایجاد کنند تا به عنوان واکسن‌های خوراکی مورد مصرف قرار گیرند. مهندسی ژنتیک در گیاه با تولید مواد ارزشمند دارویی، هورمونی، واکسن و انواع پروتئینها شامل آلبومین، اینترفرون، اریتروپوئیتین، ایمونوگلوبولین، IgG، IgA و آنتی ژنهای ایمنی‌زا در حال توسعه و تحقیق می-باشد. گیاه تراریخته به منظور تولید واکسن باعث حذف نگهداری سرد در حمل و نقل و تولید راحت می‌شود. اخیرا نسل جدیدی از واکسنها بصورت ژن، آنتی‌ژن و پپتید ایمنی‌زا ایجاد شده‌اند که باعث تحریک سیستم ایمنی به کمک سلولهایCD8+ وCD4+ می‌شوند که بسیار موثر و کم خطر هستند (Sharifi AlAgha, 2009). جایگزین کردن سیستم‌های کشت سلولی برای تولید پروتئین‌های نوترکیب می‌تواند واکسن‌های امن باهزینه کمتر تولید کند (Mason et al, 1996). در مقایسه با واکسن‌های تزریقی، واکسن‌های خوراکی امید به ایمن‌سازی راحت‌تر و روشی عملی‌تر از اجرای برنامه واکسیناسیون جهانی سراسر جهان را ارائه می‌دهد. واکسن خوراکی با تحریک سیستم ایمنی بدن در بافت لنفاوی واقع در روده عمل می‌کنند. مهندسی ژنتیک با موفقیت متفاوت برای طراحی سیستم‌های زنده و غیر زنده به عنوان ابزاری برای ارائه آنتی‌ژن به بافت ها و به تحریک یک پاسخ ایمنی مطلوب استفاده می‌شود. اخیرا، تکنیک های بیوتکنولوژی گیاهی برای ایجاد گیاهانی بکار می‌رود که حاوی یک ژن از یک پاتوژن انسانی و یا جانوری و حتی گیاهی می‌باشند.

جدول۱- واکسنهای انسانی بیان شده در گیاهان تراریخته

Table 1- Human vaccines expressed in transgenic plants (Daniell et al, 2001).

منبع پروتئین	پپتید بیان شده	گیاه میزبان
اینتروتوکسین *E.coli* (انسان)	زیر واحد B	تنباکو
اینتروتوکسین *E.coli* (انسان)	زیر واحد B	سیب زمینی
اینتروتوکسین *E.coli* (انسان)	زیر واحد B	ذرت
ویروس هپاتیت B (انسان)	غلاف پروتئین سطحی	سیب زمینی
ویروس هپاتیت B (انسان)	غلاف پروتئین سطحی	تنباکو
ویروس هپاتیت B (انسان)	غلاف پروتئین سطحی	کاهو
ویروس نورواک (انسان)	پروتئین کپسید	تنباکو
ویروس نورواک (انسان)	پروتئین کپسید	سیب زمینی
ویروسهاری (انسان)	گلیکو پروتئین	گوجه فرنگی
سیتومگالو ویروس انسانی (انسان)	گلیکو پروتئین B	تنباکو

ایمنی سازی در برابر بیماری ها

اکنون تنها واکسن با تولید انبوه بالا، که به صورت تجارتی در بسیاری از کشورهای دنیا تولید و جنبه تجارتی پیدا کرده، واکسن هپاتیت است. بیماری هپاتیت C حدود ۱۷۵ میلیون نفر را در جهان مبتلا کرده و نبود واکسن موثر، شیوع بالای سیروس کبدی، عوارض هپاتیت مزمن و گسترش روزافزون، آن را به یک معضل بهداشتی و جهانی تبدیل کرده است. آنتی‌ژنهای ایمنی‌زای *core 174* جهت تولید پروتیئن‌های تحریک کننده سیستم ایمنی انسان به گیاه سیب‌زمینی منتقل شد. بررسی‌های پروتیئنی نشان دادند که پروتیئن core174 در گیاه بیان شده است (Sharifi AlAgha, 2009). پژوهش دیگری با همین هدف صورت گرفت و ژن سنتتیک پلی‌توپ *HBs-Polytope2* برای انتقال به ریزغده های سیب‌زمینی رقم کاردال از راه زخمی کردن غده استریل و آلوده کردن آنها با آگروباکتریوم استفاده شد. بررسی‌های ملکولی گیاهان، وجود ژن و بیان پروتئین آن را نشان داد (Ghodsi et al, 2009). دو واکسن ویروس هپاتیت B که در سال ۱۹۸۶ وارد بازارهای جهانی شد و واکسن ویروس پاپیلومای انسانی (*Human Papilloma Virus - HPV*) که در سال ۲۰۰۶ وارد بازار شد از جمله واکسن‌های پرمصرف در دنیا هستند. آزمایش بر روی موش نژاد NMRI outbred که با غده سیب‌زمینی تراریخته سنتز کننده HBsAg سه بار تغذیه شدند افزایش قابل ملاحظه سطح آنتی بادی HbsAg را نشان داد که به مدت یک سال پس از ایمن-سازی حفظ شد (Rukavtsova et al, 2015). محققان توانسته‌اند در ریشه مویین سیب‌زمینی هم به بیان آنتی ژن سطحی هپاپیت B دست یابند. حتی گیاهان بازسازی شده از ریشه مویین سطوح مشابهی از نظر بیان HBSAG نسبت به گیاه تراریخته به نمایش می‌گذارند (Sunil Kumara et al, 2006).

در سال ۱۹۹۶ توتون و سیب‌زمینی تراریخته‌ای تولید شد که پروتئین کپسید از نورواک ویروس را بیان می‌کرد (Mason et al, 1996). این ویروس (*Calicivirus*) سبب التهاب معده و دیواره روده بزرگ (گاستروآنتریت) و باعث اپیدمی اسهال و استفراغ حاد در انسان می‌شود. پس از بررسی‌های انجام شده و خوراندن این گیاهان به موشها و سپس بررسی سطح آنتی‌ژنی در آنها این نتایج نشان داد گیاهان برای تولید و تحویل واکسن خوراکی بسیار سودمند هستند (Mason et al, 1996).

بیماری برونشیت عفونی (IB)، که بیماری برونشیت عفونی پرندگان نیز نامیده می‌شود، نوعی بیماری ویروسی تنفسی بسیار مسری در مرغ‌هاست. این بیماری سبب زیانهای اقتصادی مهمی می‌شود. گلیکوپروتئین S1 از ویروس عفونی (Bronchitis IBV) در سیب‌زمینی بیان شد و ایمنی آن در موش و مرغ مورد بررسی قرار گرفت. موش و مرغ واکسینه با بیان گلیکوپروتئین S1 تولید آنتی‌بادی کردند و عفونت ناشی از IBV خنثی شد. پس از سه ایمن سازی، مرغ واکسینه به طور کامل از عفونت بدخیم IBV محافظت شد. این نتایج نشان می‌دهد که سیب‌زمینی‌های تراریخت که گلیکوپروتئین S1 را بیان می‌کنند می‌تواند به عنوان یک منبع از آنتی‌ژن نوترکیب برای تولید واکسن مورد استفاده قرار گیرد (Yong Zhou et al, 2003).

در خرگوش بیماری هموراژیک ویروسی (Viral hemorrhagic disease VHd) بیماری حاد و بسیار مسری می‌باشد. اعتقاد بر این است که عامل بیماری عضو خانواده ویروسهای پاروا می‌باشد. انتقال ویروس بوسیله ذرات معلق و ترشحات حیوان صورت می‌گیرد. گیاهان سیب‌زمینی با بیان پروتئین VP60 خرگوش را در برابر بیماری ویروس هموراژیک ایمن می‌سازد. این پروتئین در گیاه سیب‌زمینی تراریخته تحت کنترل پروموتر 35S بیان شد. خرگوش ایمن شده با عصاره برگ از این گیاهان به طور کامل در برابر بیماری هموراژیک محافظت شد (Castanon et al, 1999).

محققان دریافتند که میتوان پروتئین vp6 گروه گاوی روتاویروس را در گیاه سیب‌زمینی به صورت ایمن شده تولید کرد که در این صورت این پروتئین در گیاهان می‌تواند برای تهیه معرف تشخیصی مفید باشد. پروتئین vp6 با تولید اپی‌توپ‌های مختلف آنتی‌ژن در انسان و حیوانات ایجاد بیماری می‌کند. پروتیئین vp6 تحت کنترل پروموتر 35S برای تولید آنتی‌ژن گروه A روتاویروس (GAR) به سیب‌زمینی انتقال داده شد. موش *BLAB/C* به صورت داخل صفاقی با عصاره سیب‌زمینی تراریخته مخلوط شده با مواد همراه FREUND واکسینه شد. سرم خون پس از ایمنی‌سازی پاسخ ضد vp6 در الایزا و وسترن بلات نشان داد و به عنوان پروتئین برای تهیه معرف تشخیصی استفاده شد (Matsumura et al, 2002).

تولید پروتئین نوترکیب

در دنیای امروز تقاضا برای داروهای زیستی روز به روز در حال افزایش می‌باشد و چون معمولاً قیمت این داروها، فراوانی آنها را محدود می‌کند، لازم است سیستم‌هایی توسعه یابند که بتوانند داروهای زیستی را با قیمت مناسب در اختیار مصرف کنندگان قرار دهند. از آنجائیکه یک ژن می‌تواند در سیستم‌های گوناگونی بیان شود، بنابراین تعیین سیستمی با بیشترین بازده تولید پروتئین‌های نوترکیب امری ضروری می‌باشد. استفاده از گیاهان تراریخت، به عنوان سیستم بیان پروتئین‌های نوترکیب دارویی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. یکی از روشهای تولید پروتئین‌های نوترکیب، انتقال ژنهای آنها به سلولهای گیاهی و ایجاد ریشه مویین، از این سلولها با استفاده از روشهای انتقال ژن و کشت بافت گیاهی می‌باشد. آنزیمها کاربرد وسیعی در صنعت، پزشکی، داروسازی و درمان دارند. الآسپارژیناز، یکی از آنزیم‌های دارویی مهم به شمار می‌رود که در مراحل شیمی درمانی، جهت درمان سرطان، به ویژه در درمان لوسمی لنفوبلاستیک حاد ALL در کودکان مورد استفاده قرار می‌گیرد. ژن الاسپاراژیناز *ansB*۲ از باکتری *E.coli YG001* جداسازی شد و نهایتا چون باید به گیاه منتقل و بیان می‌گردید، در نتیجه توالی آن بر اساس ترجیح کدونی سیب‌زمینی تغییر یافت. توالی مذکور به طور مصنوعی سنتز و به ریشه سیب‌زمینی منتقل شد. ریشه‌های تراژن و شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. وجود قطعه 155 bp حاصل از تکثیر ژن *ansB* توسط آغازگرهای اختصاصی، در cDNA و DNA ریشه‌های مویین تراریخت و عدم وجود آن در ریشه‌های شاهد، حاکی از انتقال این ژن به ژنوم ریشه‌های تراریخت و نیز بیان این ژن درسطح mRNA بود. برای ارزیابی فعالیت پروتئین نوترکیب تولید شده، عمل استخراج پروتئین از ریشه‌های تراژن انجام گرفت و بررسی‌ها فعالیت بیشتری را نسبت به پروتئین شاهد نشان داد (Mohamadi et al, 2014).

برخی از سلول‌های تیرویید به نام سلولهای C یا سلولهای پارافولیکولار، هورمونی پروتئینی به نام کلسیتونین را ترشح می‌کنند که برخلاف هورمون پاراتیروئید (PTH) غلظت خونی کلسیم را کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد هورمون کلسیتونین با توجه به تأثیرات استخوانی آن یعنی مهار فعالیت سلول استئوکلاست و فعال کردن سلول استئوبلاست، تأثیرات مهمی در ترمیم استخوان به خصوص ستون فقرات داشته باشد لذا کلسیتونین به صورت تزریقی برای کاهش فعالیت استوکلاستها و درمان پوکی استخوان (استئوپورز) به کار می‌رود. کلسیتونین حیوانی نیز موجود است ولی کلسیتونین نوترکیب ژنتیکی انسانی بهتر است (Andreotti et al, 2006). مصرف طولانی مدت آن با تشکیل آنتی‌بادی منجر به کاهش و یا بی‌اثر شدن فعالیت هورمون می‌شود و به همین دلیل کلسیتونین هومولوگ انسانی در درمان-های دراز مدت موردنیاز است. در تحقیقی ژن کلسیتونین انسانی (hCT) با استفاده از پروموتر اختصاصی اندام (granule bound-starch synthase I GBSSI) و پروموتر 35S در غده سیب‌زمینی تراریخته با واسطه آگروباکتریوم بیان شد. بررسی مولکولی نشان داد که ژن *hCT* بطور موفقیت آمیزی به گیاه سیب‌زمینی انتقال یافته و بیان اختصاصی در بافت غده سیب‌زمینی تراریخته منجر به تولید تقریبا پنج برابری و تجمع hCT نسبت به بیان دائمی در تمامی بافت‌های گیاهی شده است (Ofoghi et al. 2012).

ابریشم عنکبوت پروتئینی است که توسط عنکبوت تولید می‌شود. عنکبوت از ابریشم خود برای تنیدن تار برای ساخت

خانه یا دیگر سازه‌ها استفاده می‌کند که به صورت تار عنکبوتهای مشبک برای شکار دیگر موجودات یا تار و پیله برای فرزندانشان است. مقاومت کششی یک ابریشم زخیم برابر با فولاد است و حدود نصف فیلامنت‌های آرامید مانند تارون و کِولار است که به عنوان ضد گلوله استفاده می‌شوند. چگالی ابریشم‌های پروتئینی، یک ششم فولاد است. یعنی یک رشته از این الیاف به طول محیط کره زمین، کمتر از ۵۰۰ گرم وزن خواهد داشت. خاصیت کششی این نوع ابریشم به گونه‌ای است که بدون اینکه پاره شوند می‌توانند چهار برابر طول خود کشسانی داشته باشند. ترکیب مقاومت و خاصیت کششی، به ابریشم عنکبوت استحکام زیادی داده که برابر با فیلامنت‌های صنعتی پلی آرامید است که خود مبنای الیاف پلیمری مدرن هستند. در حالی که در طبیعت چنین حالتی بعید است، اما ابریشم عنکبوت می‌تواند مقاومت خود را در ۴۰ تا ۲۲۰ درجه بالای صفر حفظ کند. با توجه به خواص بی‌نظیر ابریشم، محققان با هدف تولید ابریشم عنکبوت (Spiderdragline silk) در سیب‌زمینی و توتون آزمایش موفقیت آمیزی انجام دادند. این ابریشم خواص مکانیکی قابل توجهی را دارا می‌باشد. از آنجایی که مواد نمی‌تواند در مقادیر زیاد از عنکبوت به دست بیاید بنابراین توتون و سیب‌زمینی تراریخته که می‌تواند مقدار قابل توجهی از Nephila clavipes dragline proteins را بیان کند، تولید شد. به روش سنتز ژن پروتئین نوترکیب تولیدی بیش از ۹۰٪ با مدل بومی خود شباهت داشت. آنها نشان دادند که تجمع پروتئین‌های ابریشم نوترکیب، در محلول پروتئینی شبکه آندوپلاسمی (ER) توتون و سیب‌زمینی حدود ۲٪ بود (Scheller et al, 2001).

اینترلوکین ۲ یکی از اینترلوکین‌های مهم بدن است که از گلبول‌های سفید ترشح می‌شود و در پاسخ‌های التهابی و ایمنی نقش دارد. اینترلوکین دو از سلول‌های لنفوسیت T کمک‌کننده ترشح می‌شود و بر سلول‌های لنفوسیت T، لنفوسیت‌های B، سلول کشنده طبیعی، درشت‌خوار و الیگودندروسیت موثر است. اصلی‌ترین کارکرد این سایتوکین تمایز و تولید سریع‌تر لنفوسیت T است. درسال ۲۰۰۲ پژوهشی با هدف تولید اینترلوکین ۲ نوترکیب انسانی در گیاه سیب‌زمینی انجام شد. ژن اینترلوکین ۲ انسان تحت یک پروموتر خاص سیب‌زمینی (پروموتر patatin) به سیب‌زمینی انتقال یافت. گیاهان تراریخته تولید کننده اینترلوکین ۲ انسانی تولید شد. میکروتیوبرهای آن با سن دو هفته‌ای دارای بالاترین فعالیت (۱۱۵ واحد در هر گرم) بودند. نتایج نشان داد که غده سیب‌زمینی یک سیستم عالی برای تولید انبوه اینترلوکین ۲ است (Park and Cheong, 2002).

کازئین (Casein) یک فسفوپروتئین مخصوص شیر است که در صنایع غذایی (به خاطر ارزش خوراکی و نیز عامل چسبندگی) و همچنین در پزشکی کاربرد دارد. نزدیک به ۸۰ درصد از پروتئین موجود در شیر گاو و پنیر از نوع کازئین است. تولید و بیان پروتئین β-casein شیر انسان در گیاه سیب‌زمینی انجام شد. حدود یک صدم درصد از محلول پروتئین بافت برگ سیب‌زمینی تراریخت حاوی β-کازئین بود. این یافته‌ها راهی را برای بازسازی شیر انسان در گیاهان، برای جایگزینی شیر گاو به منظور پیشگیری از بیماریهای معده و روده در کودکان می‌گشاید (Chong et al, 1997).

آلبومین پروتئین اصلی پلاسما بوده و با آب، کاتیون (مانند کلسیم و سدیم و پتاسیم)، اسید چرب، هورمون‌ها، بیلیروبین، تیروکسین و داروهای آرام بخش (ازجمله باربیتورات‌ها) پیوند می‌شود. عملکرد اصلی آن تنظیم فشار اسمزی کلوئیدی خون است. مقدار آلبومین تابع تولید، تخریب، وضع تغذیه، مقدار فشار انکوتیک پلاسما، سیتوکین‌ها و هورمون‌ها می‌باشد. چگونه این عوامل بر mRNA مربوط به آلبومین و تولید آن اثر می‌گذارند هنوز شناخته شده نیست اما فاکتور تومورنکروزیس و اینترلوکین۱ تولید آلبومین را مختل می‌کنند. بیان cDNA آلبومین سرم انسانی (HSA) در گیاهان سیب‌زمینی تحت کنترل پروموتر patatin B33 و ترمیناتور Proteinase inhibitor II و با استفاده از توالی‌های سیگنالی بازدارنده پروتئیناز انجام شد. آلبومین نوترکیب انباشته شده تا دو دهم درصد از کل محلول پروتئینی سیب‌زمینی بود. بررسی جایگاه درون سلولی نشان داد که پروتئین نوترکیب با موفقیت در آپوپلاست هدف قرار گرفت. از این فناوری، برای تولید پروتئین‌های دیگر هترولوگ مورد علاقه در صنعت بیودارویی در غده سیب‌زمینی استفاده می‌شود (Inmaet al, 2002).

جدول ۲- سایر تحقیقات بیوتکنولوژی مهم صورت گرفته در دنیا روی سیب زمینی (Watanabe 2015; Kikuchi et al, 2015).

Table 2. Other important biotechnological researches performed on potato in the world.

Researches	References
Drought resistance by over expression of potato *anti-FDA*	Ambard-Bretteville et al. 2003
Drought resistance by expression of Arabidopsis *YUCCA6*	Kim et al. 2013
Drought resistance by expression of yeast *TPS1*	Kondrak et al. 2011; 2012; Stiller et al. 2008
Drought resistance by expression of spinach *BADH*	Zhang et al. 2011
Drought resistance by expression of Rhizobacterium *codA*	Ahmad et al. 2008; Cheng et al. 2013
Drought resistance by expression of Rhizobacterium *GgpPS*	Sievers et al. 2013
Drought resistance by over expression of potato *PR-10a*	El-Banna et al. 2010
Drought resistance by expression of Globe artichoke *SST+FFT*	Knipp and Honermeier 2006
Drought resistance by expression of hot pepper bZIP-like TF	Moon et al. 2015
Drought Tolerance by expression of potato Annexin STANN1	Szalonek et al. 2015
Salinity resistance by expression of Barley *NHX2*	Bayat et al. 2010
Salinity resistance by expression of Arabidopsis *NHX1*	Wang et al. 2010
Salinity resistance by expression of Arabidopsis *P5CS*	Hmida-Sayaria et al. 2005
Salinity resistance by expression of Oyster mushroom *GDP*	Jeong et al. 2001
Salinity resistance by expression of *E. coli mtlD*	Rahnama et al. 2011
Cold resistance by expression of *anti-freezing protein (AFP)*	Wallis et al. 1997
Cold resistance by expression of Cyanobacterium *Δ12*	Amiri et al. 2010; Demin et al. 2008; Amiri et al. 2007
Cold resistance by expression of Wild potato *ω9*	De Palma et al. 2008
Cold resistance by expression of Yeast *INVase*	Deryabin et al. 2003
Reduction of ROS by expression of Strowberry *GalURase*	Hemavathi et al. 2011; Upadhyaya et al. 2011; Venkatesh et al. 2012
Reduction of ROS by expression of Cassava *SOD* + Pea *APX* + Arabidopsis *NDPK2*	Kim et al. 2010; Tang et al. 2006; 2008
Reduction of ROS by expression of Arabidopsis *2-cys Prx*	Kim et al. 2011
Reduction of ROS by expression of Himalayan cinquefoil *SOD*	Pal et al. 2013
Reduction of ROS by expression of *SOD/DHN4/DREB1/ROB5 /APX/codA*	Waterer et al. 2010; Ahmad et al. 2010
Reduction of ROS by expression of Rat *GLOase*	Hemavathi et al. 2010
Reduction of ROS by over-expression of Potato *anti-MSP*	Gururani et al. 2012; 2013
Reduction of ROS by expression of Arabidopsis *GR1*	Eltayeb et al. 2010
Reduction of ROS by expression of Arabidopsis *DHAR1*	Eltayeb et al. 2011
Heat resistance by expressing Arabidopsis an also wild potato *CBF1*	Pino et al. 2007; 2008; 2013; Carvallo et al. 2011 ; Dou et al.2015
Transgenic potato over-expressing potato *EREBP1*	Lee et al. 2007
Transgenic potato expressing Pepper *PF1*	Youm et al. 2008
Salinity resistance by expressing potato *MYB1R-1*and sweet potato *IbMYB1*	Shin et al. 2011; Cheng et al. 2013
Transgenic potato expressing Arabidopsis *DREB1A*	Behnam et al. 2006; Celebi-Toprak et al. 2005; Behnam et al. 2007; Huynh et al. 2014
Transgenic potato expressing *DREB1* and *DREB2*	Bouaziz et al. 2012; 2013
Transgenic Potato alpha-amylase gene	Gausing K, Kreiberg JD, 1992
Lepidopteron insect-resistant transgenic potato plants	Sticklen MB and Cheng J, 2000
Gene *Ryadg* conferring extreme PVY resistance in potato	Furusawa IK, Watanabe KK, 2000
Gene promoters isolated from potato and use thereof	Dai Z, Hooker BS, Shi L, 2002
Novel *Meloidogyne*-resistance gene and utilization thereof	Watanabe K, Watanabe J, 2003
Transgenic potato which generates starch with modified viscosity and phosphate characteristics; for enhancing quality of paper, cardboard,	Kossmann J, Lorberth R, 2011

Researches	References
adhesive, textile, plaster, concrete, fertilizer, medicine, and toothpaste; improving animal feeds	
Vector for coat proteins for potato virus	Tumer NE, 1990, Monsanto Co.
Potato with reduced susceptibility to nematodes	Sijmons et al. 1993
Modification of potato metabolism	Burrel MM, Blundy KS, 1999
Expression of auxin synthesis *tms1* under tuber-specific promoter enhances potato tuberization	Kolachevskaya et al. 2015
Gene encoding *Glycoalkaloid biosynthase* activity in potato	Sasaki K. et al. 2012
Plastid transformation in potato	Valkov et al, 2014
Overexpression of SBEII alters properties of starch from potato tuber	Brummell et al, 2015
Generation of targeted mutations in potato by CRISPR/Cas	Butler et al, 2015
IbOr expression in potato increase drought tolerance, tuber production	Cho et al, 2016
Potato over-expressing *StnsLTP1* tolerant to multiple abiotic stresses	Gangadhar et al, 2016
Potato resistance tofungal pathogens by pyramiding chitinase and wasabi defensin genes	Khan al, 2014
RNA Silencing of anionic peroxidase decreases the potato plant resistance to *Phytophthora infestans*	Sorokanet al, 2014
Plant-mediated gene silencing restricts growth of *Phytophthora infestans*	Jahan al, 2015
Potato over-expressing *StDXS1* in response to *Phytophthora infestans*	Henriquez et al, 2016
Potato expressing cry3A resistant to Colorado beetle	Mi et al. 2015; Guo et al. 2016
Potato expressing *oryzacystatinII proteinase inhibitor* and colorado beetle	Cingel et al, 2015
Potato co-expressing *OCI* and *OCII* tolerant to colorado beetle	Cingel et al, 2017
Potato expressing *PhRIP I* gene for resistance against phytopathogens	Gonzales-Salazar et al, 2017
RNAi-mediated simultaneous resistance against 3 viruses in potato	Hameed et al, 2017
Potato expressing *ω-ACTX-Hv1* and *GNA* gene resistant to aphids	Nakasu et al, 2014; Mi et al, 2017

منابع

Amini Z, (2012). Role of Transgenic Plants in Production of Vaccine Antigens. Journal of Biosafety. 4 (4) :45-58.

An G, Watson BD and Chiang CC, (1986). Transformation of tobacco, tomato, potato, and Arabidopsis thaliana using a binary Ti vector system. Plant Physiol. 81:301–305.

Andreotti G, Méndez BL, Amodeo P, Morelli MA, Nakamuta H, Motta A. (2006). Structural determinants of salmon calcitonin bioactivity: the role of the Leu-based amphipathic alpha-helix. J. Biol. Chem. 281 (34): 24193–203.

Barrell PJ, Meiyalaghan S, Jacobs JM, Conner AJ, (2013). Applications of biotechnology and genomics in potato improvement. Plant Biotechnology Journal 11(8):907-20.

Bortolamiol D, Pazhouhandeh M, Marrocco K, Genschik P and Ziegler-Graff V, (2007). The Polerovirus F-box protein P0 targets ARGONAUTE1 to suppress RNA silencing. Current Biology, 17(18):1615-1621.

Boschi F, Schvartzman C, Murchio S, et al. (2017). Enhanced Bacterial Wilt Resistance in Potato Through Expression of Arabidopsis EFR and Introgression of Quantitative Resistance from Solanum commersonii. Front Plant Sci. 8:1642. doi: 10.3389/fpls.2017.01642.

Castañón S, Marín MS, Martín-Alonso JM, Boga JA, Casais R, Humara JM, Ordás RJ, Parra F. (1999). Immunization with potato plants expressing VP60 protein protects against rabbit hemorrhagic disease virus. J Virol. 73(5):4452-5.

Celis C, Scurrah M, Cowgill S, Chumbiauca S, Green J, Franco J, Main G, Kiezebrink D, Visser RG, Atkinson HJ, (2004). Environmental biosafety and transgenic potato in a centre of diversity for this crop. Nature. 432(7014): 222-5.

Chawla R, Shakya R and Rommens CM, (2012). Tuber-specific silencing of asparagine synthetase-1 reduces the acrylamide-forming potential of potatoes grown in the field without affecting tuber shape and yield. Plant Biotechnology Journal. 10: 913–924.

Chen SP, Lin IW, Chen X, Huang YH, Chang HC, Lo HS, Lu HH, Yeh KW. (2016). Sweet potato NAC transcription factor, IbNAC1, up-regulates sporamin gene expression by binding the SWRE motif against mechanical wounding and herbivore attack. Plant J.

Chong DKX, Roberts W, Arakawa T, Illes K, Bagi G, Slattery CW, Langridge WHR. (1997). Expression of the human milk protein β-casein in transgenic potato plants Transgenic Research. 6(4):289-296.

Cramer CL, Weissenborn DL, Dishi KK, Graban EA, Bennett S, Ponce E, Grabowski GA and Radin DN. (1998). Bio production of human enzymes in transgenic tobacco. In collins G.B and Shepherd R.J (eds) Engineering plants for commercial products and applications. Ann. N. Y. A. Sci. New York, 62-71.

Daniell H, Stephen J.S. and Wycoff K. (2001). Medical molecular farming: Prodaction of antibodies biophamaceuticals and edible vaccines in plants. Trands in plant science. 615: 219-26.

Dorani Olyaei E, Bagheri A, Ghareyazie B and Farsi M. (2008). Transformation of Cry1Ab from Bacillus thuringiensis to potato in order to produce resistant transgenic plants to potato tuber moth. 2th National Biotechnolohy congress of Iran.

Dou H, Xv K, Meng Q, Li G, Yang X. (2015). Potato plants ectopically expressing Arabidopsis thaliana CBF3 exhibit enhanced tolerance to high-temperature stress. Plant Cell Environ. 38(1):61-72.

Esfahani K, Raoufzadeh S, Jourabchy E and Hashemi H. (2011). Transformation od Trichoderma virens Glukanase ngb13.1 gene to different cultivars of Potato. 7th National Biotechnology congress of Iran, Tehran.

Farran I, Sánchez-Serrano JJ, Medina JF, Prieto, Mingo-Castel AM. (2002). Targeted Expression of Human Serum Albumin to Potato Tubers. Transgenic Research. 11(4):337-346.

Fateri Rezvani S, Pazhouhandeh M, Ahmadabadi M, Nezami P and Shirzad A, (2012). Knock down of P0 of PLRV genome by inducing hpRNA and siRNA of this suppressor of RNA silencing gene and production of transgenic potato resistant plant to this virus. Novin Genetic, 7 (4): 121-126.

Fateri Rezvani S, Pazhouhandeh M, Shirzad A, Lotfi S. (2016). Production of Potato Resistant Plant to PVX using an RNA Silencing Mechanism. Genetic Engineering and Biosafety Journal. 5 (1) :1-14.

Ghodsi NasirAbadi P, Rouhvand F and Bakhshi Khaniki Gh. (2009). Expression of some peptides of Hepatit C virus in transgenic potato. Tehran PayameNoor University MSc. Thesis.

Hezareh MB, Sabet MS and Malboubi MA, (2017). Production of transgenic potato with chimeric construct for RNA silencing of PVY. Master thesis, Tarbiat Modares University, Tehran.

Hijmans RJ, Spooner, DM (2001). Geographic distribution of wild potato species. American Journal of Botany. Botanical Society of America. 88 (11): 2101–12.

Huang JH, Kortstee A, Dees DC, Trindade LM, Schols HA, Gruppen H. (2016a). Modification of potato cell wall pectin by the introduction of rhamnogalacturonan lyase and β-galactosidase transgenes and their side effects. Carbohydr Polym. 144:9-16.

Huang JH, Kortstee A, Dees DC, Trindade LM, Schols HA, Gruppen H. (2016b). Alteration of cell wall polysaccharides through transgenic expression of UDP-Glc 4-epimerase-encoding genes in potato tubers. Carbohydr Polym. 146:337-44.

Kikuchi A, Huynh HD, Endo T, Watanabe K, (2015). Review of recent transgenic studies on abiotic stress tolerance and future molecular breeding in potato. Breed Sci. 65(1):85-102.

Li Y, Tang W, Chen J, Jia R, Ma L, Wang S, Wang J, Shen X, Chu Z, Zhu C, Ding X. (2016). Development of Marker-Free Transgenic Potato Tubers Enriched in Caffeoylquinic Acids and Flavonols. J Agric Food Chem. 64(14):2932-40.

Mamipour R and Pazhouhandeh M, (2016). Production of transgenic potato resistant to Basta herbicide. 14th Iranian Genetic Congress, Shahid Beheshty University, Tehran, Iran, N275.

Mason H S, Ball J M, Shi J J, Jiang X, Estes M K, and Arntzen C J. (1996). Expression of Norwalk virus capsid protein in transgenic tobacco and potato and its oral immunogenicity in mice.PNAS. 93 (11): 5335-5340.

Matsumura T, Itchoda N and Tsunemitsu H. (2002). Production of immunogenic VP6 protein of bovine group A rotavirus in transgenic potato plants Brief Report Archives of Virology. 147(6):1263-1270.

Mirrokni S, Rahnam H, Zeynali H. (2014). Evaluation of total carbohydrate and soluble sugars in transgenic potato resistant to potato tuber moth. Genetic Engineering and Biosafety Journal. 3 (2) :67-75.

Mohamadi A, Niazy A, Ghasemi Y and Aram F. (2014). Tranformation of Alasparginase 2 to potato hairy root inorder to produce recombinant protein. First international and 13th national genetic congress of Iran, Tehran.

Motamed E and Pazhouhandeh M, (2016). Study on transformation of potato with AtSOS3 in order to establish salinity resistance. 14th Iranian Crop Science Congress, Gilan University, Rasht, Iran, N252.

Munir F, Hayashi S, Batley J, Naqvi SM, Mahmood T. (2016). Germin-like protein 2 gene promoter from rice is responsive to fungal pathogens in transgenic potato plants. Funct Integr Genomics. 16(1):19-27

Navarro C, Abelenda JA, Cruz-Oró E, Cuéllar CA, Tamaki S, Silva J, Shimamoto K, Prat S, (2011). Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T. Nature. 478(7367):119-22.

Ofoghi H, Yavari F and Nazarain F. (2012). Tissue specific expression of human calcitonin gene in potato tubers by an organ specific promoter. Iranian Journal of Biotechnology, 10(2): 79-86.

Park S, Gupta R, Krishna R, Kim ST, Lee DY, Hwang DJ, Bae SC, Ahn IP. (2016). Proteome Analysis of

Disease Resistance against Ralstonia solanacearum in Potato Cultivar CT206-10. Plant Pathol J. 32(1):25-32.

Park Y and Cheong H. (2002). Expression and Production of Recombinant Human Interleukin-2 in Potato Plants Protein Expression and Purification Elsevier. 25(1):160–165.

Pazhouhandeh M, Dieterle M, Marrocco K, Lechner E, Berry B, Brault V, Hemmer O, Kretsch T, Richards KE, Genschik P and Ziegler-Graff V, (2006). F-box-like domain in the Polerovirus protein P0 is required for silencing suppressor function. PNAS, 103(6):1994-1999.

Perlak FJ, Fuchs RL, Dean DA, McPherson SL and Fischhoff DA, (1991). Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes. Proc. Natl Acad. Sci. USA (PNAS), 88:3324–3328.

PGSC (Potato Genome Sequencing Consortium), (2011). Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. Nature. 475(7355):189-95.

Rahnoma H, Nikmard M, Hejazy MA and Ashrafi Helan J. (2014). The study on toxicity of transgenic potato expressing cry1Ab by animal model. First international and 13th national genetic congress of Iran, Tehran.

Rukavtsova EB, Rudenko NV, Puchko EN, Zakharchenko NS, Buryanov YI. (2015). Study of the immunogenicity of hepatitis B surface antigen synthesized in transgenic potato plants with increased biosafety. J Biotechnol. 203:84-8.

Saedi F, Baghban B, Haghnazari A and Gholizadeh A. (2011). Cloning of GBSS promoter and signal peptid domain of Potato Marfona cultivar. First national congress of agriculture sciences and new technologies, Tehran.

Sajadi M, Pazhouhandeh M, Shirzad A and Mohajel Shoja H, (2016). Production of Tobacco Resistant Plant to PVX using an RNA Silencing Mechanism. Applied Researches in Plant Protection. 5 (1) :103-115.

Scheller J, Heinz Gührs K, Grosse F and Conrad U. (2001). Production of spider silk proteins in tobacco and potato .Nature Biotechnology 19, 573 – 577

Shahin EA and Simpson RB, (1986). Gene-transfer system for potato. Horticulture Science, 21:1199–1201.

Shaji E, Mostafa Gh and Safari M. (2005). Investigation of different aspects of transgenic plants. 4th national Biotechnology congress of Iran. Kerman

Sharifi AlAgha T, Rouhvand F and Bakhshi Khaniki Gh. (2009). Transformation of Hepatit C immunogenic antigene (core174) into potato by agrobacterium and its expression analysis. Tehran PayameNoor University MSc. Thesis.

Sheikh Jabai N and Garousi Gh, (2013). The study on the control of early blight disease in transgenic potato expressing Glucose Oxidase Gene. Master thesis of International Emam Khomeini University, Gazvin.

Shepherd LV, Hackett CA, Alexander CJ, McNicol JW, Sungurtas JA, Stewart D, McCue KF, Belknap WR, Davies HV. (2015). Modifying glycoalkaloid content in transgenic potato Metabolome impacts. Food Chem. 187:437-43.

Shirzad A, M. Pazhouhandeh M, Ahmadabadi M and Behboudi K, (2012). Analysis of Cross-Talk Between Trichoderma atroviride and Pseudomonas fluorescens. Journal of Plant Pathology 94: 621-628.

Sivparsad BJ and Gubba A. (2014). Development of transgenic sweet potato with multiple virus resistance in South Africa (SA). Transgenic Res. 23(2):377-88.

Sunil Kumara GB, Ganapathia TR, Srinivasa L, Revathib CJ and Bapata VA. (2006). Expression of hepatitis B surface antigen in potato hairy roots Plant Science. 170(5): 918–925.

Szalonek M, Sierpien B, Rymaszewski W, Gieczewska K, Garstka M, Lichocka M, et al. (2015). Potato Annexin STANN1 Promotes Drought Tolerance and Mitigates Light Stress in Transgenic Solanum tuberosum L. Plants. PLoS One. 10(7):e0132683.

Turra D, Lorito M. (2011). Potato type I and II proteinase inhibitors: modulating plant physiology and host resistance. Curr Protein Pept Sci. 12(5):374-85.

Urwin PE, Green J and Atkinson HJ, (2003). Expression of a plant cystatin confers partial resistance to Globodera, full resistance is achieved by pyramiding a cystatin with natural resistance. Molecular Breeding. 12:263–269.

Urwin PE, Troth KM, Zubko EI and Atkinson HJ, (2001). Effective transgenic resistance to Globodera pallida in potato field trials. Molecular Breeding. 8:95–101 .

Valikhanlou N, Pazhouhandeh M and Azizpour K, (2017). The Assessment of Resistance to Salinity in Transgenic Potato lines with AtSOS3 gene. 10th Iranian Biotechnology Congress, Tahran. N6428.

Watanabe K. (2015). Potato genetics, genomics, and applications. Breeding science. 65(1):53-68.

Wyrzykowska A, Pieczynski M, Szweykowska-Kulinska Z. (2016) Construction of Artificial miRNAs to Prevent Drought Stress in Solanum tuberosum. Methods Mol Biol. 1398:271-90.

Wyrzykowska A, Pieczynski M, Szweykowska-Kulinska Z. (2016). Construction of Artificial miRNAs to Prevent Drought Stress in Solanum tuberosum. Methods Mol Biol. 1398:271-90.

Yong Zhou J, Xiang Wu J, Qin Cheng L, Juan Zheng X, Hui Gong, Bin Shang S, and Min Zhou E. (2003). Expression of Immunogenic S1 Glycoprotein of Infectious Bronchitis Virus in Transgenic Potatoes J Virol. 77(16):9090-3.

A review on potato genetic engineering researches yet

Maghsoud Pazhouhandeh* Ghazal Karvan and Atefeh-Sadat Razavi

Biotechnology Dept. Agriculture Fac. Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, IRAN

* Corresponding Author: pazhouhandeh@azaruniv.edu

Karvan and Razavi contributed equally to this study.

Abstract

Potato, *Solanum tuberosom*, an annual plant of the Solanaceae family is one of the important crop plants and food. This review is based on genetic engineering researches which has been conducted on this plant untill now. A variety of the transgenic potato plants which have been created to improve its agronomic characteristics, adaptation to the environment, resistance to abiotic stresses, resistance to fungal, bacterial and viral pathogens, resistance to pests, production of recombinant proteins and edible vaccines are described.

Keywords: Biotechnology, Genetic engineering, Potato, *Solanum tuberosom*, Transgenic