

- study. *The Lancet infectious diseases*. 2016;16(3):311-20.
- 28- Van Der Meeren O, Hatherill M, Nduba V, Wilkinson RJ, Muyoyeta M, Van Brakel E, et al. Phase 2b controlled trial of M72/AS01E vaccine to prevent tuberculosis. *New England Journal of Medicine*. 2018;379(17):1621-34.
- 29- Lauer KB, Borrow R, Blanchard TJ. Multivalent and multipathogen viral vector vaccines. *Clin Vaccine Immunol*. 2017;24(1):e00298-16.
- 30- Micoli F, Rondini S, Alfini R, Lanzilao L, Necchi F, Negrea A, et al. Comparative immunogenicity and efficacy of equivalent outer membrane vesicle and glycoconjugate vaccines against nontyphoidal *Salmonella*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018;115(41):10428-33.
- 31- Scorza FB, Colucci AM, Maggiore L, Sanzone S, Rossi O, Ferlenghi I, et al. High yield production process for *Shigella* outer membrane particles. *PLoS one*. 2012;7(6).
- 32- Dormitzer PR, Suphaphiphat P, Gibson DG, Wentworth DE, Stockwell TB, Algire MA, et al. Synthetic generation of influenza vaccine viruses for rapid response to pandemics. *Science translational medicine*. 2013;5(185):185ra68-ra68.
- 33- Hekele A, Bertholet S, Archer J, Gibson DG, Palladino G, Brito LA, et al. Rapidly produced SAM@ vaccine against H7N9 *Influenza* is immunogenic in mice. *Emerging microbes & infections*. 2013;2(1):1-7.
- 34- Iavarone C, O'hagan DT, Yu D, Delahaye NF, Ulmer JB. Mechanism of action of mRNA-based vaccines. *Expert review of vaccines*. 2017;16(9):871-81.

Vaccine

Translated by: Darvishalipour Sh.

Faculty of Biotechnology, Semnan University, Semnan, I.R. of Iran

Abstract

Most vaccines for diseases in low- and middle-income countries fail to be developed because of weak or absent market incentives. Conquering diseases such as tuberculosis, HIV, malaria, and Ebola, as well as illnesses caused by multidrug-resistant pathogens, requires considerable investment and a new sustainable model of vaccine development involving close collaborations between public and private sectors.

Key words: World health, vaccine, Immunogenicity

کاربردهای بالقوه زیست فناوری گیاهی در مقابل SARS-CoV-2

علیرضا ایرانبخش* و صبا مهربانی فر

تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

چکیده

سندروم تنفسی حاد کروناویروس ۲ (SARS-CoV-2) (Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2) از یک کروناویروس جدید ناشی می‌شود و اکنون باعث ایجاد یک دنیاگیری (pandemic) انسانی در حال پیشرفت (کووید-۱۹) شده است. در حال حاضر، تلاش‌های بین‌المللی زیادی برای توسعه عوامل یا معرف‌های تشخیصی و نیز کشف واکسن و داروهای ضدویروسی به منظور کاهش سرعت شیوع بیماری و نجات جان انسان‌ها در حال انجام هستند. بخشی از این تلاش‌های بین‌المللی، شامل محققانی می‌شود که روی گیاهان کار می‌کنند. آن‌ها در واقع دانشمندان و شرکت‌های تجاری و سرمایه‌گذاری را از سراسر جهان گرد هم آورده‌اند تا سریعاً به منبعی از پروتئین‌های آنتی‌ژنی و آنتی‌بادی‌ها برای ساخت کیت‌های تشخیصی و نیز سیستم‌های تولیدی مقیاس‌پذیر برای ساخت با فوریت واکسن‌ها و داروهای ضدویروسی، دست پیدا کنند. ما در این جا بعضی از روش‌هایی را مرور می‌کنیم که گیاهان می‌توانند در آن‌ها برای مبارزه با کووید-۱۹ به کار گرفته شده یا می‌شوند.

کلیدواژگان: گیاهی، کووید-۱۹، زیست فناوری، سندروم تنفسی حاد کروناویروس ۲

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: Iranbakhsh@iau.ac.ir

شیوع ویروس بالقوه کشنده کروناویروس (SARS-CoV-2)،
واژه نامه را ببینید) در شهر ووهان (Wuhan) چین در

کووید-۱۹: چگونه زیست فناوری گیاهی
می‌تواند در این زمینه کمک کند و مفید واقع شود؟

Agrenvec (اسپانیا، مادرید)، شرکت Diamante (ورونا، ایتالیا)، شرکت ژنتیکی ORF (ایسلند) و شرکت Ventria Bioscience/Invitria (فورت کالینز، ایالات متحده آمریکا) چندین شرکت کشاورزی مولکولی، متخصص تولید پروتئین‌های مشتق‌شده از گیاهان به‌عنوان معرف‌های تشخیصی هستند. علاوه بر این، محصولات چندگانه در کارآزمایی‌های بالینی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند و حتی اخیراً تعداد کمی از آن‌ها به‌عنوان وسایل پزشکی و دارویی به بازار راه یافته‌اند (۱،۲). مثلاً یک IgA/G آمیزه ای^۲ تولید شده در گیاهان تنباکوی تراریخته به‌عنوان ابزاری پزشکی (CaroRX) برای جلوگیری از پوسیدگی دندان وارد بازار شده است (۳). از طرف دیگر، فرم نوترکیب آنزیم انسانی گلوکوسربروسیداز^۳ تولید شده در کشت‌های سوسپانسیون سلول گیاهی به‌عنوان دارویی (نام دارو: تالیگوسراز آلفا^۴ از شرکت Elelyso) برای بیماران مبتلا به بیماری گوجر^۵ در بازار عرضه می‌شود (۴). پیشگامان کشاورزی مولکولی، مزیت‌های استفاده از گیاهان را این‌گونه برمی‌شمارند: گیاهان به لحاظ اقتصادی، مقرون به‌صرفه و از طرف دیگر مقیاس‌پذیر و ایمن هستند. می‌توان گیاهان را بدون این‌که به رشد عوامل بیماری‌زای انسانی، کمک کنند، با هزینه کم و در مقیاس‌های بزرگ، کشت کرد (۵). اما این مزایا آن‌قدر قانع‌کننده نیستند تا باعث شوند که گیاهان در همه صنایع تولیدی زیستی به‌عنوان اساس و چارچوب تولید مورد استفاده قرار بگیرند. معمولاً اکثر صنایع زیستی از باکتری *اشریشیا کلی*^۶ و چند میکروب دیگر و نیز رده‌های مختلف سلولی پستانداران به‌عنوان بنیادها و چارچوب‌های مقرر استفاده می‌کنند زیرا چارچوب‌های نظارتی و کنترلی قوی برای این سیستم‌ها وجود دارد (۶). با این حال گیاهان در یک رشته موارد دارای گُنا^۷ خود هستند زیرا می‌توانند مواد زیستی را با پیکره‌بندی^۸ گلیکانی مناسب تولید کنند (مانند تالیگوسراز آلفا)^۹ (۴،۷)، همچنین می‌توانند تولیداتی را در مقیاس گسترده ایجاد کنند (همان چیزی که برای میکروب‌کش^۹-های^۸ HIV مورد نیاز است). یک مزیت گیاهان که به وضعیت فعلی هم مربوط می‌شود این است که گیاهان در

دسامبر ۲۰۱۹ باعث ایجاد یک همه‌گیری (کووید-۱۹) شد و دولت‌های سراسر جهان را در وضعیتی فوق‌العاده قرار داد، به‌طوری که مجبور شدند وضعیت را اورژانسی اعلام کنند و اقدامات کنترلی را انجام دهند تا بتوانند شرایط را تحت کنترل درآورند. دولت‌ها، اقدامات کنترل‌کننده را انجام دادند و هدف از این اقدامات کنترلی، به تعویض انداختن شیوع عفونت و در نتیجه کاهش فشار و بار شدید بر تخت‌های بیمارستانی، خط مقدم درمان، کارمندان و منابع پزشکی بود. کاهش سرعت شیوع عفونت و در نتیجه کاهش تعداد کل موارد حاد در هر زمانی می‌تواند به جلوگیری از ازهم‌پاشیدگی سیستم‌های بهداشتی و درمانی ملی کمک کند. همچنین این تاکتیک‌ها، زمان بیشتری را در اختیار محققان قرار می‌دهند تا روش‌های آزمایشی موثری را برای شناسایی ناقلین بیماری توسعه دهند، و همچنین درمان‌هایی را بیابند تا بتوانند شدت علائم را کاهش داده و عفونت را سریع‌تر برطرف کنند. از طرفی، این زمان می‌تواند به محققان اجازه دهد تا واکنش‌های کاندید را برای محافظت از بخش‌هایی از جمعیت که در معرض بیماری نبوده‌اند، معرفی کنند. محققانی که روی کاربردهای گیاهان کار می‌کنند می‌توانند نقش مهمی در این ایام حیاتی ایفا کنند: آن‌ها می‌توانند از دانش و زیرساخت‌های علمی موجود به‌عنوان ابزاری برای توسعه روش‌های تشخیصی و درمانی جدید استفاده کنند. پس گیاهان می‌توانند به‌عنوان چارچوبی برای ساخت چنین معرف‌هایی در بازه زمانی چند هفته‌ای عمل کنند و این زمان، نسبت به زمان مورد نیاز برای سیستم‌های مبتنی بر سلول که چند ماه یا حتی چند سال زمان می‌برد، خیلی به صرفه و عاقلانه به نظر می‌رسد. در این‌جا، سه حوزه‌ای را که گیاهان می‌توانند در آن سهم عمده‌ای داشته باشند، مرور می‌کنیم: معرف‌های تشخیصی برای شناسایی افراد آلوده یا بهبودیافته، کشف واکنش برای جلوگیری از عفونت و ساخت ضدویروس‌ها برای درمان علائم.

چرا گیاهان؟

بیش از ۳۰ سال است که از گیاهان به‌عنوان چارچوب یا اساسی برای تولید معرف‌های تشخیصی و پروتئین‌های دارویی استفاده می‌شود که اغلب به این روش، "کشاورزی (زراعت) مولکولی"^۱ می‌گویند (۱،۲). از جمله شرکت

^۲-Chimeric secretory IgA/G

^۳-Glucocerebrosidase

^۴-taliglucerase alfa

^۵-Gaucher disease

^۶-*Escherichia coli*

^۷-niche

^۸-configuration

^۹-microbicides

^۱-Molecular farming

توسعه یافته بود، یک RNA مصنوعی را بسته‌بندی کردند که شامل همه مناطق ژنگانی SARS-CoV-2 است که توسط کیت‌های آزمایشگاهی سازمان جهانی بهداشت (WHO) در داخل VLPs های مشتق شده از CPMV شناسایی شده‌اند، و در گیاهان، تولید و مونتاژ می‌شوند. VLPs ها در مقابل حرارت باثبات‌اند، قابلیت تولید مجدد و تکثیر بالایی دارند و معرف‌های استاندارد بسیار مقیاس‌پذیری دارند که می‌توانند به عنوان منبع RNA کنترل مثبت در آزمایشات RT-PCR مورد استفاده قرار بگیرند (جرج لومونوسوف و هادرین پیریت، ارتباطات شخصی^۵، ۲۰۲۰).

توسعه کیت برای تشخیص پروتئین‌های ویروسی، نیازمند لیگاندهای اختصاصی است و دسترسی به آن‌ها با شناسایی آنتی‌بادی‌های مربوطه میسر می‌شود. یک ذره بالغ SARS-CoV-2 شامل چهار پروتئین ساختاری است که با عنوان پوشش^۶ (E)، غشا^۷ (M)، نوکلئوکپسید^۸ (N) و ساختار گُری^۹ شکل^{۱۰} (S) شناخته می‌شوند اما از دیدگاه تشخیص مبتنی بر آنتی‌بادی، پروتئین S از همه مهم‌تر است زیرا از سطح ویرون بیرون می‌زند) و دُمین اتصال به گیرنده یا RBD^{۱۱} را در معرض سیستم ایمنی قرار می‌دهد (شکل ۲). تزریق کل ضروریات SARS-CoV-2 یا پروتئین S / RBD نو ترکیب یا جداسازی شده به موش‌ها می‌تواند برای تولید کلون‌های هیبریدوما^{۱۲} مورد استفاده قرار بگیرد. همچنین می‌توان از پروتئین RBD/S برای غربال‌گری کتابخانه آنتی‌بادی فاژ یا سیستم‌های مشابه استفاده کرد. در نهایت این باعث تولید توالی‌هایی از آنتی‌بادی‌هایی می‌شود که تمایل زیادی به پروتئین S دارند. تولید مقیاس‌یافته چنین آنتی‌بادی‌هایی باعث تولید کیت‌های تشخیص ویروسی می‌شود که به قالب‌های راحت‌تر و سریع‌تری مثل ELISAs، سنجش‌های جریان جانبی^{۱۲} و یا سنجش‌های مبتنی بر تراشه‌های پروتئینی^{۱۳} نیاز دارند. با استفاده از پروتئین‌های نو ترکیب ویروسی و بیان گذرای آنتی‌بادی در گیاهان، می‌توان یک بستر بیان به‌شدت مقیاس‌پذیر برای تقویت سطح تولید در زمان کوتاه ایجاد کرد. نیاز به منابع پر حجم‌تر و طولانی مدت نیز توسط گیاهان تراریخته برآورده می‌شود.

سیستم‌های بیان گذرا می‌توانند با سرعت زیادی افزایش مقیاس دهند تا بتوانند تقاضاهای ناگهانی و پیش‌بینی‌نشده را برآورده کنند (۱۰). این، یک حالت ایده‌آل برای تولید معرف‌های تشخیصی، واکسن‌های کاندید و داروهای ضد ویروسی در مواجهه با یک بیماری همه‌گیر است که به سرعت در حال گسترش است.

عوامل تشخیصی

شیوع سریع کووید-۱۹ نیاز ناگهانی و عظیمی برای کیت‌های تشخیصی ایجاد کرد و از کمبود شدید معرف‌ها و ابزار تولید آنها پرده برداشت. به طور کلی، دو سنجش تشخیصی اصلی مورد نیاز است: یکی تشخیص خود ویروس و در نتیجه شناسایی جمعیت آلوده و گسترش-دهنده‌های بالقوه بیماری و دیگری تشخیص آنتی‌بادی‌های مقابله‌کننده با ویروس و در نتیجه شناسایی افراد بهبودیافته و افراد با ایمنی بالقوه.

آزمایش‌های شناسایی خود ویروس دو دسته‌اند: آزمایش‌های مبتنی بر تشخیص RNA ژنگانی ویروس هستند و آنهایی که بر اساس شناسایی پروتئین‌های ویروس‌اند. روش مبتنی بر RNA بلافاصله بعد از انتشار توالی SARS-CoV-2 در بانک ژنگانی یا GenBank (توالی مرجع پایگاه NCBI: NC_054412.2) توسعه یافت زیرا ویروس توسط RT-PCR تشخیص داده می‌شود و تنها اجزای سنجش اختصاصی، پرایمرها هستند که به راحتی سنتز می‌شوند. با این حال، یکی از مشکلات این آزمایش، نبود یک کنترل مثبت عمومی است که بتواند استانداردهایی را بین آزمایشگاه‌های مختلف فراهم آورد. یک گروه در مرکز John Innes (در نوریچ انگلستان) به سرپرستی جرج لومونوسوف^۱ و هادرین پیریت^۲ در حال تولید یک عامل کنترل تشخیصی برای کووید-۱۹ هستند که بر اساس ذرات شبه ویروسی (VLPs^۳) مشتق شده از ویروس موزاییک نوعی نخود فرنگی (CPMV^۴) است. ذرات شبه ویروسی همان ساختار ویروس والدینی را دارد اما فاقد ژنگان اصلی (native genome) است و در نتیجه قادر به تکثیر نیست. گروه JIC با استفاده از روشی که برای اولین بار برای شیوع بیماری ویروسی پا و دهان (۱۱)

⁵ -personal communication

⁶ -Envelope

⁷ -Membrane

⁸ -Nucleocapsid

⁹ -Spike

¹⁰ -Receptor-binding domain

¹¹ -hybridoma

¹² -lateral flow assay

¹³ -assays based on protein chips

¹ -George Lomonosoff

² -Hadrien Peyret

³ -virus-like particles

⁴ -Cowpea mosaic virus

شود، زمان زیادی لازم است. از طرف دیگر، چنین واکنشی عوارض جانبی و معایب زیادی خواهد داشت، مثل خطر ابتلای مجدد به ویروس (۱۵،۱۶). یک جایگزین ایمن تر و سریع تر، تولید واکنش های زیرواحدی مبتنی بر پروتئین ویروس است که می توانند یا به صورت آنتی ژن های SARS-CoV-2 و در یک الگوی از اول تقویت شده^۱ به همراه یک ترکیب کمکی مناسب ارائه شود، یا به صورت VLPs با چندین کپی از آنتی ژن های SARS-CoV-2 که روی یک سطح، مرتب و ردیف شده اند. در حال حاضر از هر دو استراتژی به عنوان ابزاری برای مبارزه با همه گیری کووید-۱۹ استفاده می شود. هر چهار پروتئین ساختاری SARS-CoV-2 می توانند باعث ایجاد آنتی بادی های خنثی کننده^۲ و پاسخ $CD4^+/CD8^+$ سلول های T شوند (۱۷). با این حال تحقیق درباره سویه اصلی SARS-CoV نشان داده است که پروتئین N، نامناسب است زیرا در بین اعضای خانواده CoV، بسیار حفاظت شده است (از جمله مواردی که اغلب به شکل سرماخوردگی با آن ها روبرو می شویم). آنتی بادی های که در مقابل پروتئین N ترشح می شوند، ایمنی محافظتی ایجاد نمی کنند در حالی که آنتی بادی های مقابله کننده با پروتئین های E و M، فقط پاسخ های محافظتی ضعیفی ایجاد می کنند (۱۸). SARS-CoV-2 یک ویژگی غیرمعمول در بین کروناویروس ها دارد: پروتئین S که به صورت پروتئولیتیک به یک زیر واحد S1 (۶۸۵ آمینواسید) و یک زیر واحد S2 بسته شده به غشا (۵۸۸ آمینواسید) می شکند که زیر واحد S2 در بین اعضای خانواده CoV، بسیار محافظت شده (۹۹٪) است. در مقابل، S1 فقط ۷۰٪ شباهت را به سایر سویه های CoV انسانی نشان می دهد و تفاوت ها عمدتاً مربوط به RBD هستند که با اتصال به آنزیم ۲ تبدیل کننده آنژیوتانسین ($ACE2^3$) در سطح سلول، ورود ویروس را تسهیل می کند (۱۹). بلوک کردن ورود ویروس، یک استراتژی موفق برای کنترل عفونت است و به همین دلیل، بیشترین واکنش های کاندید برای SARS-CoV اصلی، پروتئین S را هدف می گیرند. این واکنش ها معمولاً چنین عمل می کنند: خنثی سازی پاسخ های آنتی بادی یا سمیت سلولی به واسطه سلول و وابسته به آنتی بادی (نوعی سمیت سلولی که هم به واسطه سلول

تاریخچه کشاورزی مولکولی، بیش از ۳۰ سال پیش با انتشار مقاله ای درباره تولید آنتی بادی ها در تنباکو (*Nicotiana tabacum*) آغاز شد (۱۴) و اغلب، این طبقه از محصولات هستند که بیشتر بیان می شوند و دارای تنوع گسترده ای در ارتباط با قالب آنتی بادی، استراتژی بیان و گونه های میزبان/بستره هستند. بنابراین تولید آنتی بادی تشخیصی SARS-CoV-2 در گیاهان می تواند مزایای زیادی داشته باشد؛ مثل دانش گسترده و دانش مجتمع شده برای تضمین این موضوع که آنتی بادی های مشتق شده از گیاهان، پایدار و عملکردی هستند و با بازده بالا تولید می شوند.

همچنین انتشار توالی SARS-CoV-2، اطلاعات مورد نیاز برای تولید پروتئین های نو ترکیب ویروسی به عنوان معرف های تشخیصی را فراهم آورد. در دسترس بودن چنین پروتئین هایی، این امکان را فراهم می کند تا تشخیص آنتی بادی های سرم در بیماران بهبود یافته صورت گیرد، به خصوص آنتی بادی هایی که علیه پروتئین S تولید شده اند. گیاهان، وسیله ای برای تولید این پروتئین ها در مقیاس عظیم و فقط در عرض چند هفته هستند، سپس می توان کیت ها را برای توزیع در مراکز آزمایشگاهی، تولید و ذخیره کرد. در مقابل، اگر بخواهیم همان معرف ها را با استفاده از رده های سلولی بیان کنیم، چند ماه طول می کشد، از طرف دیگر برای بالا بردن ظرفیت تولید به سطح لازم، شاید به سال ها زمان نیاز باشد. پس ما سناریویی را در ذهن مجسم می کنیم که در آن از سیستم های بیان گذرا برای رفع نیاز مبرم به مقادیر زیاد این معرف ها در مدت زمان کوتاه (۶ تا ۲ ماه) استفاده می شود. این سناریو با استفاده از گیاهان تراریخته جهت رسیدن به تولید در مقیاس های بزرگتر و برای مدت طولانی، کامل می شود. به عنوان نمونه به یک رویکردی که قبلاً پیاده شده اشاره می کنیم: شرکت زیست فناوری ایتالیایی به نام Diamante از تنباکو برای بیان آنتی ژن های مبتنی بر RBD SARS-CoV-2 برای استفاده در تست های ELISA به منظور شناسایی آنتی بادی های سرمی استفاده می کند.

واکنش های کاندید

یک رویکرد متعارف برای توسعه واکنش، براساس سویه های غیرفعال یا ضعیف شده SARS-CoV-2 است اما برای این که این رویکرد منجر به تولید واکنش به مقدار کافی

¹ -Prime-boost schedule

² -neutralizing antibodies

³ -Angiotensin-converting enzyme-2

تراریخته *آرابیدوبسیس تالیانا*^۴ بیان شد. این آنتی ژن نوترکیب باعث ترشح آنتی بادی‌های اختصاصی TGEV در موش شد و ثابت کرد که آنتی ژن‌های ایمنی زا (برانگیزنده سیستم ایمنی) کروناویروس می‌توانند در گیاهان تولید شوند (۲۸).

توسعه VLPs‌هایی که دارای آنتی ژن‌های SARS-CoV-2 بودند، به عنوان واکسن، دارای چندین مزیت بود، زیرا این ذرات به دلیل اندازه‌هایشان، به شکل موثری توسط سلول‌های حاوی آنتی ژن جذب می‌شوند و باعث تحریک سیستم ایمنی تطبیقی می‌شوند و ساختارهای پروتئینی منظم به‌عنوان سیگنال‌های خطر شناسایی، می‌توانند پاسخ‌های قوی سلولی و همورال را تحریک کنند (۲۹). VLPs‌های مبتنی بر ویروس‌های گیاهی، یک لایه ایمنی اضافی فراهم می‌آورند زیرا حتی ذرات بومی هم نمی‌توانند در انسان تکثیر شوند؛ پس می‌توان مقدار زیادی از آن‌ها را از طریق کشاورزی مولکولی در گیاهان تولید کرد (۳۰). یک پلت فرم VLP که در آن از گیاهان تنباکو به‌عنوان میزبان تولید استفاده می‌شود، توسط شرکت Medicago (کیبک، کانادا) توسعه یافته‌است و آن‌ها به یک نقطه عطف مهم در تولید دست یافته‌اند و توانسته‌اند بیش از ۱۰ میلیون دوز واکسن را در طول یکماه برای مقابله با آنفولانزای H1N1 تولید کنند و این پروژه بخشی از برنامه‌ای به نام فرشته آبی^۵ DARPA بود (۳۱). اخیراً Medicago اعلام کرده که قصد دارند از پلت فرم‌هایشان برای تولید سریع واکسن‌های مبتنی بر VLP برای مقابله با SARS-CoV-2 استفاده کنند، اگرچه ماهیت دقیق VLP‌ها، هنوز هم محرمانه باقی مانده- است (۳۲). به‌طور مشابه، شرکت iBio (TX، آمریکا) هم درحال توسعه یک واکسن مبتنی بر VLP بر پایه تنباکو است و این کار را با تکیه بر سیستم اختصاصی "داروسازی سریع"^۶ خود انجام می‌دهد.

در حالی که آنتی ژن‌های زیرواحدهای ویروس و VLPs‌ها به این منظور طراحی شده‌اند که هنگام مواجهه با طبیعت باعث ایجاد پاسخ ایمنی در مقابل عامل بیماری‌زا شوند، تزریق آنتی بادی‌های نوترکیب نیز در مقابل SARS-CoV-2 می‌تواند به کاهش سرعت عفونت کمک کند و به بدن فرصت دهد تا پیش از این که در مقابل بیماری تسلیم شود،

است و هم وابسته به آنتی بادی می‌باشد (ADCC)^۱/ارائه متقابل. و بدین ترتیب به ایمنی سلولی حفاظت‌کننده دست می‌یابد (۲۰).

بسیاری از واکسن‌های کاندید زیرواحدی، قبلاً در گیاهان تولید شده‌اند، مثلاً چندین واکسن برای مقابله با سویه‌های فصلی یا همه‌گیر ویروس آنفولانزا با بیان گذرا در تنباکو تولید شده‌اند. واکسن‌ها طی سه هفته پس از دریافت توالی‌های هموگلوپتینین و نورآمینیداز ساخته شدند (۲۱) و با استفاده از وکتورهای شکسته‌شده مبتنی بر ویروس موزاییک تنباکوی دریافت شده توسط *Agrobacterium tumefaciens* (اساس این رویکرد فناورانه، ۲۰ سال پیش توسعه یافته است) تولید شدند (۲۲). به ازای هر کیلوگرم برگ تازه، ۲۰۰ میلی گرم پروتئین تولید شد (۲۳). تصور می‌شود که حداقل یکی از شرکت‌هایی که روی تولید واکسن کووید-۱۹ کار می‌کنند، کارش بر اساس بیان زیرواحدهای پروتئینی SARS-CoV-2 در گیاهان تنباکو باشد. این شرکت، Kentucky BioProcessing (اوونزبورو، کنتاکی، ایالات متحده آمریکا) نام دارد که از شرکت‌های تابعه تنباکوی آمریکایی می‌باشد (۲۴). با این‌که درحال حاضر، جزییات در دسترس عموم نیست، اما احتمالاً هدف، توالی پروتئینی S1 به‌عنوان یک پلی‌پپتید کامل یا RBD کوچکتر داخل آن است. پروتئین‌های S1 مربوط به SARS-CoV و SARS-CoV-2. به‌شدت گلیکوزیل هستند (۲۵، ۲۶) و گلیکان‌ها، ترکیبی از پیکره‌بندی‌های پیچیده و غنی از مانوز هستند که باعث لزوم بیان S1 نوترکیب و RBD در سیگنال پپتیدهای N-ترمینال می‌شوند که ترشح پروتئین‌ها به سیستم داخل غشایی را تضمین می‌کنند (۲۷). هنوز معلوم نیست که آیا تفاوت ساختاری گلیکان‌های پیچیده در انسان و گیاهان می‌تواند باعث تفاوت در موثر بودن واکسن‌های SARS-CoV-2 مبتنی بر گیاهان شود یا نه، با این‌حال، ساختار گلیکان‌های غنی از مانوز در بین یوکاریوت‌های پیشرفته بسیار محافظت شده‌است به‌طوری که می‌توان گفت که این اپی‌توپ‌ها، پایدار هستند. تنها یک گزارش قبلی که در مورد پروتئین S کروناویروس بیان‌شده در گیاهان وجود دارد: اکتودمین^۲ کروناویروس مسری^۳ خوکی ایجاد کننده التهاب روده (TGEV)^۳ که در رده‌های

^۴-Arabidopsis thaliana

^۵-DARPA Blue Angel

^۶-FastPharming

^۱-antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity

^۲-ectodomain

^۳-Transmissible gastroenteritis coronavirus

بسیاری از موارد شدید و کشنده، مهار می‌کنند.

دو آنتی‌بادی که می‌توانند با این هدف برای درمان کووید-۱۹ مورد استفاده قرار بگیرند، Sarilumab/Kevzara و tocilizumab/Actemra هستند که هر دو آن‌ها به گیرنده اینترلوکین-۶ (IL-6R) وصل می‌شوند و برای درمان آرتريت روماتوئید مورد استفاده قرار می‌گیرند. هر دو آنها در مرحله کارآزمایی بالینی برای کووید-۱۹ هستند (۴۴،۴۵).

ضدویروس‌ها

داروهای ضدویروسی، چرخه تکثیر ویروس را مهار می‌کنند، بنابراین سرعت عفونت را کاهش می‌دهند و به سیستم ایمنی بدن، زمان بیشتری برای پاسخگویی می‌دهند. بسیاری از داروهای ضدویروسی، واحدهای کوچک شیمیایی هستند که با استفاده موثر از فرآیندهای سنتزی و نیمه‌سنتزی تولید شده‌اند و بعید است که تغییر روش به سمت تولید مبتنی بر گیاهان، مفید یا حتی علمی باشد. با این حال، برخی از پروتئین‌ها می‌توانند به عنوان ضدویروس مورد استفاده قرار بگیرند، مثل پروتئین‌های متصل‌شونده به کربوهیدرات‌های (لکتین‌ها) حاصل از گیاهان. لکتین‌ها به عنوان عواملی شناخته شده‌اند که به طیف گسترده‌ای از ویروس‌ها وصل می‌شوند و با بلوکه کردن ساختارهای گلیکانی موجود بر سطح ویروس‌ها، آن‌ها را غیرفعال می‌کنند (۴۶). مثلاً، گریفیستین، یک لکتین ۱۲۱ آمینواسیدی است که توسط یک جلبک قرمز از جنس *Griffithsia* است.

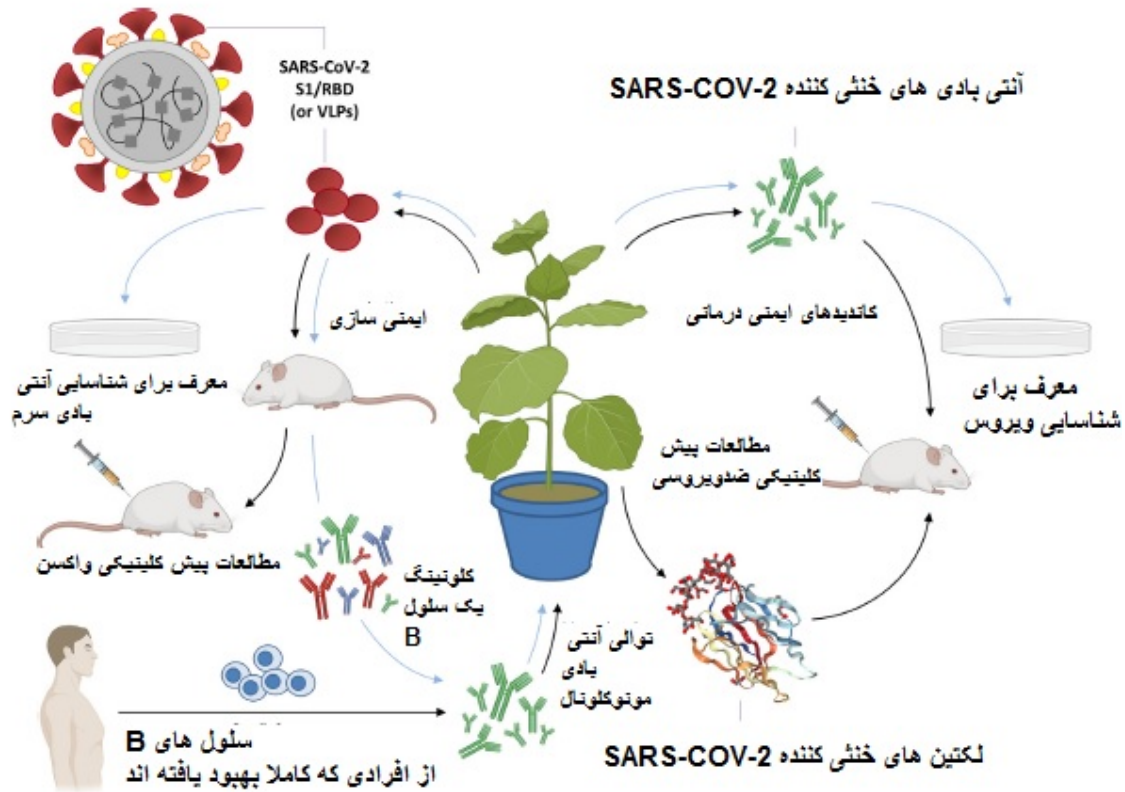
گریفیستین به عنوان مهارکننده ویروس‌های متعددی عمل می‌کند که هیچ واکنشی برای آن‌ها وجود ندارد: شامل HIV (۴۷)، ویروس ابولا (۴۸) و کروناویروس مسئول شیوع SARS اصلی (SARS-CoV) (۴۹) و شیوع بعدی آن، یعنی سندروم تنفسی خاور میانه (MERS-CoV) (۵۰). گریفیستین دارای فعالیت قدرتمندی در مقابل این ویروس‌هاست، سمیت کم آن برای سلول‌های انسانی، یک دیدگاه درمانی گسترده و مفید را به ما ارائه می‌دهد.

هنوز معلوم نیست که آیا گریفیستین، SARS-CoV-2 را غیرفعال می‌کند یا نه، اما پروتئین سطحی S در SARS-CoV و SARS-CoV-2 بسیار حفاظت شده‌است و دارای برخی موقعیت‌های گلیکانی منحصربه‌فرد و بسیار حفاظت شده است (۲۵، ۲۶).

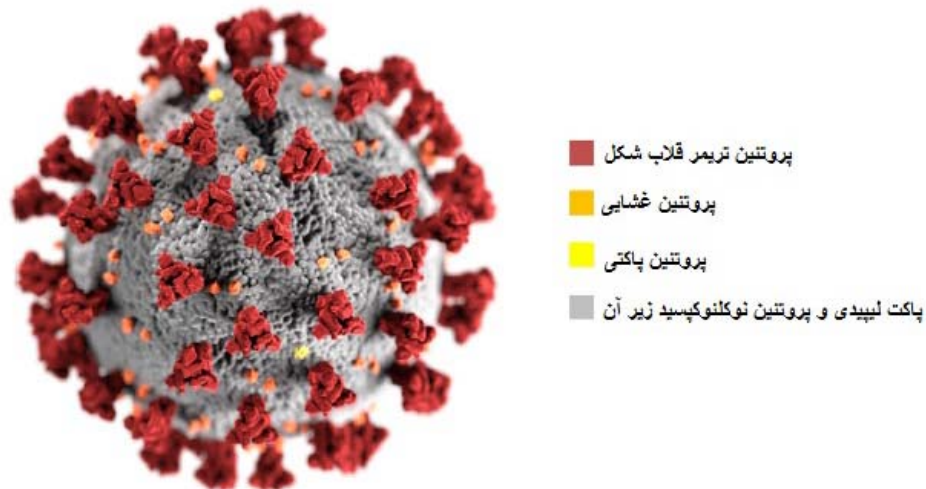
آنتی‌بادی‌های خود را ترشح کند. این استراتژی توسط مجموعه‌ای از یافته‌های علمی که اخیراً کشف شده‌اند، پشتیبانی و تایید می‌شود. این یافته‌ها عبارت‌اند از: سرم بیماران بهبودیافته مورد استفاده برای کاهش شدت علائم بیماری و سرعت بخشیدن به دوره بهبودی مورد استفاده قرار بگیرد (۳۴، ۳۵). بنابراین گیاهان می‌توانند برای تولید آنتی‌بادی‌ها، نه تنها به عنوان معرف‌های تشخیصی ویروس، بلکه به عنوان نوعی **ایمنی درمانی غیرفعال** مورد استفاده قرار بگیرند. طرح این رویکرد توسط شرکت Mapp Biopharmaceutical (سانتیاگو، کالیفرنیا، آمریکا) و بازوی تجاری آن، یعنی LeafBio در سال ۲۰۱۴ و درحین شیوع ویروس ابولا در غرب آفریقا، بنیان‌گذاری شد. شرکت، یک کوکتل از سه آنتی‌بادی خنثی‌کننده به نام ZMpp (۳۶) را طراحی کرد که به دلیل پتانسیل نجات‌بخشی (حفظ حیات) و نبود گزینه‌های دیگر، برای استفاده‌های انسان‌دوستانه، تأیید شد (۳۷، ۳۸). برای این منظور، دوزهای بالای (بالای ۱۰ میلی گرم برای هر بیمار) آنتی‌بادی مورد نیاز است، این بدین معناست که تنها گیاهان تراریخته رشدیافته در مقیاس‌های گسترده می‌توانند برای تولید چنین محصولاتی، صرفه اقتصادی داشته‌باشند. به‌طور مشابه، پتانسیل تولید بزرگ مقیاس آنتی‌بادی‌های اختصاصی HIV که به‌طور گسترده‌ای خاصیت خنثی‌کنندگی دارند؛ مثل 2G12 و 2F5 در گیاهان تراریخته تنباکو (۳۹)، ذرت (۴۰، ۴۱) و برنج (*Oryza sativa*) (۴۲) ثابت شده‌است.

دولت آلمان، به شرکت Fraunhofer IME برای تولید 2G12 در تنباکو برای کارآزمایی بالینی فاز اول انسانی، نوعی لیسانس یا پروانه ساخت به نام GMP¹ (آزمایش ساخت خوب) اعطا کرده، و می‌توان از مشابه این مدل برای آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده برای مقابله با SARS-CoV-2 استفاده کرد. علاوه‌براین، اخیراً از برنج به عنوان یک وسیله تطبیق‌پذیر و همه‌کاره برای تولید 2G12 به همراه دو **لکتین** ضدویروسی (بخش بعدی را ببینید) استفاده شده، که می‌تواند هزینه کوکتل‌های از پیش فرموله شده مواد فعال را کاهش دهد (۴۳). علاوه‌بر تولید آنتی‌بادی‌هایی که به‌طور مستقیم، ویروس را خنثی می‌کنند، می‌توان از گیاهان برای تولید مقادیر زیاد آنتی‌بادی‌های درمانی استفاده کرد که طوفان سایتوکاینی ناشی از عفونت SARS-CoV-2 را در

¹ -good manufacturing practice



شکل ۱- کاربرد گیاهان برای تولید معرف های تشخیصی، واکسن های کاندید و پروتئین های ضدویروسی برای هدف قراردادن همه گیری کووید-۱۹. فلش های آبی، نشان دهنده مسیرهای بالقوه برای معرف های تشخیصی هستند. فلش های سیاه نشان دهنده مسیرهای اضافی برای واکسن ها و عوامل درمانی برای کاربردهای انسانی هستند. یک گیاه تنباکو هم نشان داده شده که نشان دهنده دو چیز است: بیان گذرا و گیاهان تراریخته که به شکل پایدار به پلت فرم های تولید، تبدیل شده اند. این شکل شامل عکس هایی از Biorender است (<http://biorender.com/>). ساختار گریفتسین متصل به گلپکان های غنی از مانوز با استفاده از بیننده NGL مبتنی بر فایل بانک اطلاعات پروتئینی 3LL2 طراحی شده است.



شکل ۲- ساختار SARS-CoV-2 که نشان دهنده موقعیت غالب پروتئین قلابی تریمری است. این تصویر در ابتدا توسط مرکز کنترل بیماری در آناتلای امریکا ارائه شده است.

بگیرند، خط تولید و توسعه واکسن‌ها و درمان‌ها به دلیل نیاز به آزمایشات پیش‌بالینی و تست‌های بالینی، به لحاظ زمانی، طولانی است. علاوه بر این باید پروتئین‌های دارویی تحت شرایط GMP تولید شوند و این یکی از مواردی است که باید به زمان توسعه و هزینه‌ها اضافه کرد. با این وجود، بیان گذرا در گیاهان، سریع‌تر از بسترهای مبتنی بر میکروب‌ها و سلول‌های پستانداران عمل می‌کند زیرا هیچ نیازی به ایجاد رده‌های سلولی پایدار که محصول نهایی را تولید می‌کنند، نیست. همچنین هیچ نیازی به توسعه فرآیندهای مقیاس‌پذیر وجود ندارد زیرا مقیاس‌پذیری سیستم‌های بیان گذرا سخت نیست و فقط مستلزم کشت گیاهان بیشتری است. بنابراین، بیان گذرا این امکان را فراهم می‌آورد که مواد لازم برای تست‌های بالینی، در چند هفته کوتاه تولید شوند و همچنین تولید در مقیاس بالای مواد بالینی با حداقل سرمایه گذاری، امکان پذیر گردد. چالش اصلی و منحصربه‌فرد کووید-۱۹، نیاز به آزمایش جهانی کل جمعیت بشر است که از نظر تقاضا، بی‌سابقه است. جهان باید از تولید صفر به سمت تولید چندین میلیارد آزمایش در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه برود و این همان جایی است که گیاهان تراریخته می‌توانند راه حل باشند. گیاهان تنباکو، حبوبات، سبزیجات و غلات می‌توانند در بسیاری از محیط‌ها رشد کنند، بنابراین محصولات آن‌ها، آنتی‌ژن‌ها، آنتی‌بادی‌ها یا ضدویروس‌ها، می‌توانند با استفاده از زیرساخت‌های محلی تولید شوند که این دقیقاً همان شبکه توزیعی است که در حال حاضر برای غذاها و دانه‌های غلات، بدون نیاز به زنجیره سرما، وجود دارد. این رویکرد در پروژه EU Pharma-Planta برای برنامه‌های بشردوستانه در زمینه پیشگیری از HIV بنیان‌گذاری شد (۳۹) که می‌تواند گسترش اجتناب‌ناپذیر آزمایش SARS-CoV-2 را برای همه بخش‌های جمعیت جهانی، تسهیل کند (۶۱،۶۲). پروژه Pharma-Planta همچنین جنبه‌های نظارتی و تنظیمی کشاورزی مولکولی را در مرزهای بین‌المللی مورد بررسی قرار داد و می‌توان اصول مشابهی را برای کووید-۱۹ اعمال کرد (۶۳).

جامعه کشاورزی مولکولی در ایجاد فرآیندهای مبتنی بر گیاهان برای تولید پروتئین‌های تشخیصی و درمانی برای مبارزه با کووید-۱۹ بسیار فعال است. دو جریان کنسرسیوم اتحادیه اروپا در زمینه کشاورزی مولکولی پیشنهاد می‌کنند

پس احتمال واکنش‌های حدواسط وجود دارد. به طور مشابه، اسکیتوویرین، یک لکتین ۹۵ آمینواسیدی از سیانوباکتری به نام *Scytonema varium* است (۵۱) که در مقابل چند ویروس، فعال است، از جمله HIV، ویروس ابولا، ویروس ماریبورگ و SARS-CoV (۵۲). یک مطالعه روی لکتین‌های ۳۳ گیاه دیگر مشخص کرد که ۲۰ کاندید دارای فعالیت علیه SARS-CoV هستند و دارای مقادیر EC₅₀ در دامنه نانومولار متوسط اند و هیچ گونه سمیتی را در غلظت‌های بالای ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر ندارند (۵۳). معمولاً لکتین‌های متصل‌شونده به مانوز قوی‌ترین فعالیت در برابر SARS-CoV را دارند و این نشان می‌دهد که گلیکان‌های غنی از مانوز، موثرترین اهداف هستند. با این حال، لکتین‌های اختصاصی برای گالاکتوز؛ مثل N-استیل گالاکتوزآمین، گلوکز و N-استیل گلوکزآمین هم خاصیت ضدویروسی از خود نشان دادند، اگرچه EC₅₀ در یک طیف وسیع‌تر، متفاوت است. جالب اینکه به نظر می‌رسد لکتین‌ها دو مرحله متفاوت از چرخه تکثیر ویروسی را هدف قرار می‌دهند، و این نشان‌دهنده مکانیسم داخلی برای جلوگیری از جهش‌های گریزان است. از گیاهان برای تولید طیف وسیعی از لکتین‌های ضدویروسی استفاده می‌شود، شامل گریفستین (۵۴،۵۵)، سیانوویرین (۵۶-۵۹)، و پروتئین‌های ادغام‌شده با سیانوویرین (۶۰). همچنین می‌توان به رده‌های برنج تراریخته که گریفستین بیان می‌کنند و نیز سیانوویرین‌های موجود در دانه‌ها (با یا بدون آنتی‌بادی 2G12) اشاره کرد (۴۳). بیان گذرا در گیاهان، دسترسی سریع به پروتئین‌های ضدویروسی را فراهم می‌آورد و می‌توان برای تولید در مقیاس چند گرم در عرض چند هفته کوتاه را با افزایش مقیاس، میسر کرد. سپس می‌توان از گیاهان تراریخته به‌عنوان یک منبع دائمی برای مقیاس‌های خیلی بزرگتر استفاده کرد.

نتیجه‌گیری: چشم انداز آینده

بیان گذرا در گیاهان، یک بستر عالی را برای پروتئین‌های تشخیصی، واکسن‌های کاندید و پروتئین‌های ضدویروسی در پاسخ به عوامل بیماری‌زای نوظهور مثل SARS-CoV-2 را فراهم کرده است. در حالی که پروتئین‌های تشخیصی مانند آنتی‌ژن‌های ویروسی یا آنتی‌بادی‌های اختصاصی ویروس می‌توانند بلافاصله به‌عنوان ترکیبات و مولفه‌های سنجش‌ها و کیت‌ها (پس از ارزیابی و تأیید) مورد استفاده قرار

۱۹ کمک کنیم، بلکه می‌توانیم مدلی را بسازیم که بتوان با آن یک پاسخ سریع و هدفمند به همه‌گیری‌های آینده را ایجاد کرد (بخش سوالات برجسته را ببینید).

این مقاله ترجمه ای است از:

Potential applications of Plant Biotechnology against SARS-CoV-2, Teresa Capell, Richard M. Twyman, Victoria Armario-Najera, Julian K.-C. Ma, Stefan Schillberg and Paul Christou, Trends in Plant Science, 2020.

که تلاش‌هایشان به تولید چنین پروتئین‌هایی معطوف شود. در حال حاضر دو پروژه H2020 در جریان هستند (پروژه Pharma-Factory و Newcotiana) که هردوی آن‌ها در حال توسعه پلتفرم‌های مبتنی بر گیاهان برای کاربردهای صنعتی هستند. همکاری با شرکت‌هایی که کیت‌های تشخیصی و محصولات درمانی تولید می‌کنند به منظور بردن محصولات به سمت تجاری‌سازی، بسیار مهم و مورد نیاز است. ما این فرصت را داریم که نه تنها به مهار همه‌گیری فعلی کووید-

منابع

- Schillberg, S. et al. (2019) Critical analysis of the commercial potential of plants for the production of recombinant proteins. *Front. Plant Sci.* 10, 720
- Fischer, R. and Buyel, J.F. (2020) Molecular farming – the slope of enlightenment. *Biotechnol. Adv.* 40, 107519
- Ma, J.K.-C. et al. (1998) Characterization of a recombinant plant monoclonal secretory antibody and preventive immunotherapy in humans. *Nat. Med.* 4, 601–606
- Mor, T.S. (2015) Molecular pharming's foot in the FDA's door: Protalix's trailblazing story. *Biotechnol. Lett.* 37, 2147–2150
- Ma, J.K.-C. et al. (2003) The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. *Nat. Rev. Genet.* 4, 794–805
- Stoger, E. et al. (2014) Plant molecular pharming for the treatment of chronic and infectious diseases. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65, 743–768
- Fischer, R. et al. (2018) Glyco-engineering of plant-based expression systems. *Adv. Biochem. Engin./Biotechnol.* Published online August 2, 2018. https://doi.org/10.1007/10_2018_76
- Sabalza, M. et al. (2013) Seeds as a production system for molecular pharming applications: status and prospects. *Curr. Pharm. Des.* 19, 5543–5552
- Vamvaka, E. et al. (2014) Can plant biotechnology help to break the HIV–malaria link? *Biotechnol. Adv.* 32, 575–582
- Whaley, K.J. et al. (2011) Emerging antibody products and Nicotiana manufacturing. *Hum. Vaccines* 7, 349–356
- King, D.P. et al. (2007) Development of a novel recombinant encapsidated RNA particle: evaluation as an internal control for diagnostic RT-PCR. *J. Virol. Methods* 146, 218–225
- Gao, Y. et al. (2018) A brief review of monoclonal antibody technology and its representative applications in immunoassays. *J. Immunoassay Immunochem.* 39, 351–364
- Yuan, Y. et al. (2017) Protein arrays I: antibody arrays. *Methods Mol. Biol.* 1654, 261–269
- Hiatt, A.H. et al. (1989) Production of antibodies in transgenic plants. *Nature* 342, 76–78
- Jiang, S. et al. (2005) SARS vaccine development. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 1016–1020
- Regla-Nava, J.A. et al. (2015) Severe acute respiratory syndrome coronaviruses with mutations in the E protein are attenuated and promising vaccine candidates. *J. Virol.* 89, 3870–3887
- Shang, W. et al. (2020) The outbreak of SARS-CoV-2 pneumonia calls for viral vaccines. *NPJ Vaccines* 5, 18
- Gralinski, L.E. and Menachery, V.D. (2020) Return of the coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses* 12, 135
- Wan, Y. et al. (2020) Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J. Virol.* 9, e00127-20
- Du, L. et al. (2009) The spike protein of SARS-CoV—a target for vaccine and therapeutic development. *Nat. Rev. Microbiol.* 7, 226–236
- Pandey, A. et al. (2010) Egg-independent vaccine strategies for highly pathogenic H5N1 influenza viruses. *Hum. Vaccines* 6, 178–188
- Vaquero, C. et al. (1999) Transient expression of a tumorspecific single-chain fragment and a chimeric antibody in tobacco leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 11128–11133.
- Shoji, Y. et al. (2011) Plant-based rapid production of recombinant subunit hemagglutinin vaccines targeting H1N1 and H5N1 influenza. *Hum. Vaccines* 7, 41–50
- British American Tobacco (2020) BAT Working on Potential COVID-19 Vaccine through US Bio-tech Subsidiary, BAT
- Vankadari, N. and Wilce, J.A. (2020) Emerging Wuhan (COVID-19) coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26. *Emerg. Microb. Infect.* 9, 601–604
- Walls, A.C. et al. (2020) Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell* 181, 281–292
- Krokhin, O. et al. (2003) Mass spectrometric characterization of proteins from the SARS virus: a preliminary report. *Mol. Cell. Proteom.* 2, 346–356
- Gómez, N. et al. (1998) Expression of immunogenic glycoprotein S polypeptides from transmissible gastroenteritis coronavirus in transgenic plants. *Virology* 249, 352–358
- Lua, L.H.L. et al. (2014) Bioengineering virus-like particles as vaccines: virus-like particles as vaccines. *Biotechnol. Bioeng.* 111, 425–440
- Rybicki, E.P. (2020) Plant molecular farming of virus-like nanoparticles as vaccines and reagents. *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.* 12, e1587
- D'Aoust, M.A. et al. (2010) The production of hemagglutinin-based virus-like particles in plants: a rapid, efficient and safe response to pandemic influenza. *Plant Biotechnol. J.* 8, 607–619
- Phillip Morris International (2020) Medicago Develops a Plant-Based Vaccine for Coronavirus, Phillip Morris International
- iBio (2020) iBio Announces Development of Proprietary COVID-19 Vaccine Candidates, iBio
- Duan, K. et al. (2020) Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* Published online April 6, 2020. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004168117>
- Shen, C. et al. (2020) Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA* Published online March 27, 2020. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.4783>
- Hiatt, A. et al. (2015) The emergence of antibody therapies for Ebola. *Hum. Antibod.* 23, 49–56

37. Qiu, X. et al. (2014) Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature* 514, 47–53
38. Na, W. et al. (2015) Ebola outbreak in Western Africa 2014: what is going on with Ebola virus? *Clin. Exp. Vaccine Res.* 4, 17–22
39. Ma, J.K.-C. et al. (2015) Regulatory approval and a first-in-human phase I clinical trial of a monoclonal antibody produced in transgenic tobacco plants. *Plant Biotechnol. J.* 13, 1106–1120
40. Rademacher, T. et al. (2008) Recombinant antibody 2G12 produced in maize endosperm efficiently neutralizes HIV-1 and contains predominantly single-GlcNAc N-glycans. *Plant Biotechnol. J.* 6, 189–201
41. Ramessar, K. et al. (2008) Cost-effective production of a vaginal protein microbicide to prevent HIV transmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 3727–3732
42. Vamvaka, E. et al. (2016) Rice endosperm produces an underglycosylated and potent form of the HIV-neutralizing monoclonal antibody 2G12. *Plant Biotechnol. J.* 14, 97–108
43. Vamvaka, E. et al. (2018) Unexpected synergistic HIV neutralization by a triple microbicide produced in rice endosperm. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, E7854–E7862
44. Long Island Press (2020) Northwell Health Initiates Clinical Trials of 2 COVID-19 Drugs, Long Island Press
45. Swiss Broadcasting Corporation (2020) WHO and Roche Launch Trials of Potential Coronavirus Treatments, Swiss Broadcasting Corporation
46. Mazalovska, M. and Kouokam, C. (2018) Lectins as promising therapeutics for the prevention and treatment of HIV and other potential coinfections. *Biomed. Res. Int.* 2018, 3750646
47. Mori, T. et al. (2005) Isolation and characterization of griffithsin, a novel HIV-inactivating protein, from the red alga *Griffithsia* sp. *J. Biol. Chem.* 280, 9345–9353
48. Barton, C. et al. (2014) Activity of and effect of subcutaneous treatment with the broad-spectrum antiviral lectin griffithsin in two laboratory rodent models. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 58, 120–127
49. O'Keefe, B. et al. (2010) Broad-spectrum in vitro activity and in vivo efficacy of the antiviral protein griffithsin against emerging viruses of the family Coronaviridae. *J. Virol.* 84, 2511–2521
50. Millet, K. et al. (2016) Middle East respiratory syndrome coronavirus infection is inhibited by griffithsin. *Antiviral Res.* 133, 1–8
51. Bokesch, H.R. et al. (2003) A potent novel anti-HIV protein from the cultured cyanobacterium *Scytonema varium*. *Biochemistry* 42, 2578–2584
52. Garrison, A.R. et al. (2014) The cyanobacterial lectin scytovirin displays potent in vitro and in vivo activity against Zaire Ebola virus. *Antiviral Res.* 112, 1–7
53. Keyaerts, E. et al. (2007) Plant lectins are potent inhibitors of coronaviruses by interfering with two targets in the viral replication cycle. *Antiviral Res.* 75, 179–187
54. O'Keefe, B.R. et al. (2009) Scaleable manufacture of HIV-1 entry inhibitor griffithsin and validation of its safety and efficacy as a topical microbicide component. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 6099–6104
55. Vamvaka, E. et al. (2016) Rice endosperm is cost-effective for the production of recombinant griffithsin with potent activity against HIV. *Plant Biotechnol. J.* 14, 1427–1437
56. Sexton, A. et al. (2006) Transgenic plant production of cyanovirin-N, an HIV microbicide. *FASEB J.* 20, 356–358
57. Drake, P.M.W. et al. (2013) Transformation of *Althaea officinalis* L. by *Agrobacterium rhizogenes* for the production of transgenic roots expressing the anti-HIV microbicide cyanovirin-N. *Transgenic Res.* 22, 1225–1229
58. O'Keefe, B.R. et al. (2015) Engineering soya bean seeds as a scalable platform to produce cyanovirin-N, a non-ARV microbicide against HIV. *Plant Biotechnol. J.* 13, 884–892
59. Vamvaka, E. et al. (2016) Cyanovirin-N produced in rice endosperm offers effective pre-exposure prophylaxis against HIV-1BaL infection in vitro. *Plant Cell Rep.* 35, 1309–1319
60. Sexton, A. et al. (2009) Design, expression, and characterization of a multivalent, combination HIV microbicide. *FASEB J.* 23, 3590–3600
61. Ma, J.K.-C. et al. (2005) Molecular farming for new drugs and vaccines. Current perspectives on the production of pharmaceuticals in transgenic plants. *EMBO Rep.* 6, 593–599
62. Paul, M.J. et al. (2013) Target product selection - where can Molecular Pharming make the difference? *Curr. Pharm. Des.* 19, 5478–5485
63. Sparrow, P.A. et al. (2007) Pharma-Planta: road testing the developing regulatory guidelines for plant-made pharmaceuticals. *Transgenic Res.* 16, 147–161

Potential applications of Plant Biotechnology against SARS-CoV-2

Translated by: Iranbakhsh A.R. and Mehrbani far S.

Research and Science Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a novel coronavirus responsible for an ongoing human pandemic (COVID-19). There is a massive international effort underway to develop diagnostic reagents, vaccines, and antiviral drugs in a bid to slow down the spread of the disease and save lives. One part of that international effort involves the research community working with plants, bringing researchers from all over the world together with commercial enterprises to achieve the rapid supply of protein antigens and antibodies for diagnostic kits, and scalable production systems for the emergency manufacturing of vaccines and antiviral drugs. Here, we look at some of the ways in which plants can and are being used in the fight against COVID-19.

Key words: Plant, COVID-19, Biotechnology, SARS-CoV-2