**مهندسی تولیدمتابولیت های ثانویه درگیاهان**

دستاوردهای اخیر،در زمینه مهندسی تولیدات سوخت و سازثانویه گیاهی ارائه شده است . مسیر های مختلف با استفاده ازژن های کد کننده آنزیم بیوسنتزو یا ژن های کد کنندهپروتئین های تنظیم کنندهدستکاری شده است . علاوه بر این،ژن آنتیسنسبرای جلوگیری ازمسیرهایرقابتی استفاده شده است، که موجب افزایش شدت نفوذنسبت بهتولیدات ثانویهمورد نظر میشود.

**مقدمه**

سوخت وسازثانویه گیاهی عملکردهای گوناگونی درطول چرخه زندگی گیاه دارند . این عملکرد هارا می توانبه عنوان واسطهدر اثر بر هم کنشگیاهبا محیط زیست خود طبقه بندی کرد ماننداثر متقابل گیاه با حشرات ، گیاه با میکروارگانیسموگیاه با گیاه .تولید ساختاری آنتی فیدنت ها و فیدونت تیسیپین ها ، و تولید القایی فیتولکسین ها ، از تولیداتمتابولیت هایثانویهبخشی از سیستمدفاعی گیاههستند . سوخت وسازثانویههمچنین در تولید مثلگیاهایفای نقشمی کند ، به عنوان مثال ،در جذبحشرات گرده افشانودرباروری مردان . تولیدات ثانویهجنبه های مهمکیفیمواد غذاییانسان (طعم ، رنگ ، بو) راتعیین می کنند و رنگدانه هایگیاهیبرایتنوعگیاهان زینتیو گل ها مهم هستند . علاوه بر این ،چندینتولید ثانویهگیاهیبرایتولیددارو ،رنگ ،حشره کش ها ،طعمو رایحهاستفاده می شود . بنابراین سوخت و سازثانویهیکهدفجالب برایاصلاح نباتات است . اصلاح نژادمولکولی ،در این زمینه ، بااستفاده ازمهندسی ژنتیک،یک رویکردامیدوار کنندهاست. اگر چهدر 10 سال گذشتهبرخی از تحقیقاتدر این زمینهبه طور کامل انجام شده است ، محدودیتی که تاکنون محققان با آن دست و پنجه نرم میکردند، مشخص نبودن برخی از فعالیت ها و مسیر ها در طول سنتز متابولیت های ثانویه در گیاه بوده است، این ضعف، بویژه در مراحل حد واسط مسیر بیوسنتز و همینطور در نوع و عملکرد آنزیم ها بیشتر نمایان است.در نتیجهتعداد بسیار کمی ازژن های سوخت و سازثانویهگیاهیدر دسترس هستند . بهترینمسیرمورد مطالعهدر سطحژنتیکیآن است کهمنجر به تشکیلفلاونوئیدها وآنتوسیانینشود . بسیاری ازژن هادرمسیرآنتوسیانینتوسطترکیبی ازبیوشیمی ، بیولوژی مولکولیو ژنتیکشبیه سازیشده اند . ایندستاوردبا این حقیقت کهرنگ گل،فنوتیپی است کهبه راحتی قابل مشاهده است ، تسهیل شده است . دیگر مسیرهایتولیداتثانویهکهدر حدمیانجیو آنزیم هایمورد مطالعه هستند ، به طور عمده بهمحصولات داروییمهممانندایندولو آلکالوئیدهای ایزوکوئینولین گستردهشده است . با این حال ، ازاین مسیرها ، تنها تعدادنسبتا کمی ازژن ها هستندکه تا کنونشناسایی شده اند .

مهندسی ژنتیکبه عنوان یکمسیر متابولیکیثانویههدف دارد است،تامقداریک ترکیبخاص یاگروهی ازترکیباترا افزایش یا کاهش دهد . برای کاهشتولیدبرخی از ترکیب (ترکیبات) یا گروه های ناخواسته روش های متعددیامکان پذیر است . مرحله آنزیمی در مسیرمی تواند ، برای مثال ،به وسیله کاهشسطح آر ان آی پیامبر مربوطه از طریق آنتی سنس ، فن آوری های تداخل آر ان آ ، و یا بیان بالای یک آنتی بادی بر ضد یک آنزیم ، ویران کننده باشد . رویکردژن آنتی سنسشده است با موفقیتبرایتغییر رنگگلاستفاده شده است . روش هایدیگر عبارتند ازانحراف اینجریانبه یکمسیررقابتیو یاافزایشکاتابولیسمترکیبهدف .

بیشتر اوقات ،هدف افزایشتولید ترکیباتخاصدرگونه هایطبیعیگیاهان تولیدیو یاانتقال (بخشی از) یک مسیربهسایر گونه های گیاهیو یا دیگر (میکرو) ارگانیسم هاست . همچنین، هنوزعلاقه بهتولیدترکیبات جدیددر طبیعتتوسطگیاهانتولید شدهوجود ندارد . برای افزایشتولید (گروهی) ترکیب (ها) دودیدگاه عمومیدنبال شده اند . در نتیجه ، در آغاز ،روشی کهبرای تغییربیانیک یاچند ژناستفاده شده است ، برمراحلمحدود کننده سرعتخاص درمسیر، به بستنمسیرهایرقابتی وکاهش کاتابولیسممحصولمورد علاقه ، غلبه میکند . مرحله دوم ، شاملتلاش هایی است کهبرای تغییربیان ژنهای تنظیم کننده شده است کهژن هایبیوسنتزهای متعدد راکنترل می کنند . نمونه های اخیراز روش هایمختلف کهدر اینجابررسی شد ، چند گروهعمدهمتابولیتثانویه را تحت پوشش قرار می دهد .

**فلاونوئیدها وآنتوسیانین ها**

**ژن هایبیوسنتز**

زمانی که مسیربیوسنتز سلولبه خوبیشناخته شده بودو نتایجبه راحتی می توانستبا تغییر دررنگ گلمشاهده شود ، بیوسنتزفلاونوئیدوآنتوسیانین هااولینهدف برایمهندسی ژنتیکبوده است . آزمایشاتمتعددیانجام شده استکه شاملبیان بالایژنهای مختلفمسیر ، هدف ، به عنوان مثال ،به منظور تولیدرنگگلجدید به وسیله ی عرضه ترکیباتجدید درگیاه می باشد . به دلیل اینکه کهفعالیت آنتی اکسیدانیآنها ، سطوح بالاتری نسبت بهآنتوسیانینوفلاونوئیددر مواد غذاییدارند ،هدفجالب است . کارهای بسیاریبر روی گوجه فرنگیانجام شده است . سی اچ آی ، یک آنزیماولیهاز مسیرفلاونوئید بوده کهبه عنوانکلیدیبرای افزایش تولیدفلاونول یافتشد . بیان بیش از حدژن سی اچ آی گل اطلسی به افزایش 78 برابرازسطوحفلاونوئیددر پوست گوجه فرنگیمنجر شده است . پس ازفرآوریگوجه فرنگی ،اگربا کنترل هایغیرتراریختدر مقایسهشود ، یک افزایش 21 برابریازفلاونولدررب گوجه فرنگی به دست آمده است . به جزمحتوایفلاونوئید ، نهگیاهان تراریختهو نهربگوجه فرنگی های تراریخته نمی تواند ازکنترل هایمربوطه خود رامتمایز کنند . بنابرایننشان داده می شود کهافزایش سطحترکیباتیکه برای سلامتیمفید استدرگوجه فرنگیمی باشدامکان پذیر است .

ایزوفلاوندرحبوباتبه عنوان فیتولکسین ها عمل می کند که بیو سنتز این ترکیبات ضد میکروبی فعال ناشی از عفونت های میکروبی است . این ترکیباتمی توانددر آرابیدوپسیس ، توتونو ذرت تولید شود که به طور معمولعدم تواناییسنتزاین ترکیبات ، توسطبیان بالای سنتزایزوفلاون ، یک آنزیمسیتوکرومپی 450 ، ایجاد می شود . تولیدایزوفلاون ها بستگی بهدر دسترس بودنپیش سازهااز طریق مسیر فنیل پروپانوئید دارد . بنابراین القا یامهندسی ژنتیکاز این مسیربرای بهبود بیشتربیوسنتزایزوفلاوندرگونه های گیاهیهترولوگ ، مهم است .

**ژن های تنظیمی**

یک جایگزین برایمهندسیبیان ژن های مسیرمستقلاستفاده ازفاکتورهای رونویسی هستند کهژن هایمسیرهای متعدد راکنترلمی کنند . دردانهذرت ،ساختآنتوسیانینتوسطترکیبی ازدو گونهعامل رونویسی ، آر و سی 1 تنظیم می شود . پروتئین آر به صورتهمسانباپایهپروتئینمارپیچ حلقه ومارپیچکد گذاریتوسطپروتوانکوژن سی ام وای سی مهره داران به اشتراک گذاشته میشود در حالی که پروتئین سی 1 با محصول پروتوانکوژن سی ام وای بی همسانی دارد . القایمسیرکاملفلاونوئیدتوسطبیان بالای فاکتورهای رونویسی آر و سی 1 در سلول هایتمایز نیافتهذرتکشت شدهدر شرایط آزمایشگاهی ، به دست آورده شده است . همچنین،دربرنجبیان بالایعوامل آر و سی 1 رونویسیذرتدر ترکیب باژنسنتاز موجب فعال شدن ساختآنتوسیانین شده است ، باعث افزایش مقاومت بهقارچ ها می شود . در آرابیدوپسیس یک نوع فاکتور رو نویسی ام وای بی مستقل مشخص شد ، کهبهبیان بالای گیاهانبارنگبنفش شدیددر طولتوسعه منجر شده است . این نمونه هانشان می دهد کهکنترلژنتیکیدقیق حاصل ازتجمعمحصول طبیعیدر طولرشد گیاهمی تواند توسطبیان بالاییک یا چندعامل رونویسی ، حتی درگونه های گیاهیهترولوگ ، غلبه داشته باشد .

عواملرونویسینیز می توانندبه عنوانسرکوبگرانتجمعمحصول طبیعیعمل کنند .

**آلکالوئید ها**

مسیر بیوسنتز آلکالوئید ایندول ترپنوئید ها امروزه از یکی از جذاب ترین مسیر های بیوسنتزی برای محققان شده است و از آن جا که حدود 15 آلکالوئید ایندول ترپنوئید از نظر صنعتی حائز اهمیت هستند، تعداد زیادی از آن ها در حال بررسی این مسیر می باشند. برای مثال آلکالوئید های ضد تومور وین بلاستین ، وین کریستین و کامپوتسین را می توان نام برد. بیشتر تمرکز این محققان، بر روی نقشه یابی این مسیر در مراحل اولیه و نیز بر روی بیان بیش از حد برخی از ژن های اولیه معطوف می باشد.

**آلکالوئید های ایزوکینولین**

یکی دیگر از گروه های مهم دارویی منشا گرفته از متابولیت های ثانویه گیاهی، ایزوکینولین ها هستند که از مهمترین و معروف ترین اعضای این گروه می توان مرفین و کدئین را نام برد. با دست یابی و شناخت مسیر متابولیسمی این متابولیت ها در چند سال اخیر، راه برای پیشرفت مهندسی متابولیت بیش از پیش آسان شده است.

**کاروتنوئید**

به چند دلیل مسیر بیوسنتزی کاروتنوئید ها مورد توجه مهندسان متابولیت است. یکی این که کاروتنوئید ها ترکیبات رنگی مهمی در گل ها، غذا ها و میوه ها هستند. دیگر اینکه خاصیت آنتی اکسیدانی دارند و نهایتاً می توان به این نکته اشاره کرد که ویتامین A از B-carotene منشا می گرد.

**مشتقات بنزوئیک اسید**

سالیسیلیک اسید یکی از مهمترین مولکول های علامت ده(سیگنالیک) در گیاه است که پس از مواجهه گیاه با عوامل پاتوژن، در فراین مقاومت اکتسابی گیاه نقش بسزایی دارد. اگر چه شواهد هنوز کامل نیست، اما تا پیش از این تصور می شد که این ترکیب از مشتقات فنیل آلانین است. مطالعات اخیر حاکی از این است که سالیسیلیک اسید حاصل از واکنش گیاه نسبت به عوامل پاتوژن، از طریق فرایند کوریزمات سنتاز و تبدیل ایزوکوریزمات به کوریزمات حاصل می شود.