



ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΡΑΚΗΣ

# ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

## ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΦΥΤΩΝ

Δρ. Α. ΓΑΛΑΝΗΣ  
[agalanis@mbg.duth.gr](mailto:agalanis@mbg.duth.gr)

2024

# **Μοριακή Γεωργία – Molecular Farming**

# Μοριακή Γεωργία vs Γενετικά Τροποποιημένα Τρόφιμα



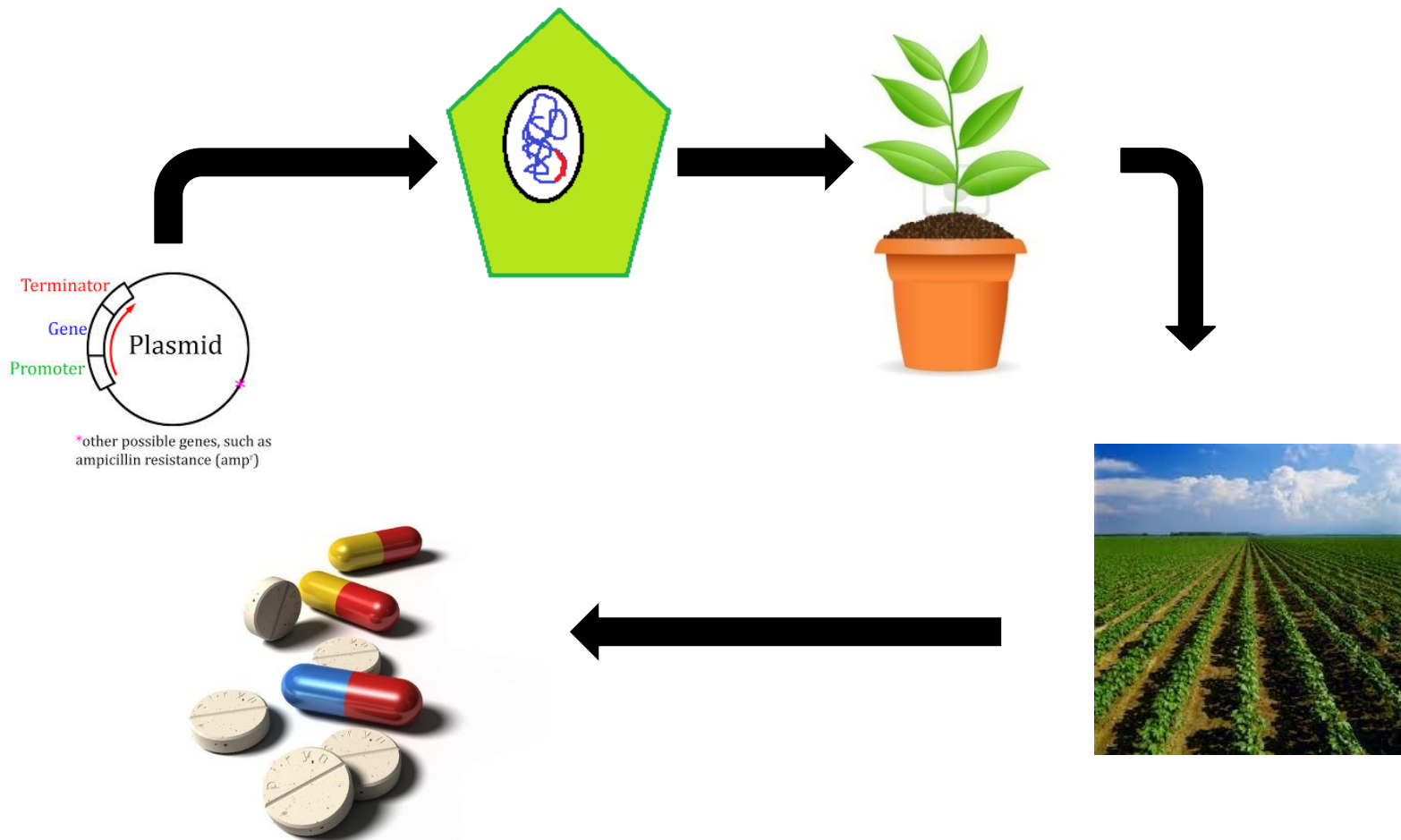
vs



Ο όρος «**Μοριακή Γεωργία**» έχει αποδοθεί στην καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών για την παραγωγή φαρμακευτικών ουσιών, βιομηχανικών ενζύμων και λειτουργικών δεύτερων μεταβολιτών. Τα διαγονιδιακά φυτά μπορούν να αποτελέσουν ένα πολύτιμο βιολογικό εργαστήριο παραγωγής ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών, που θα συμπληρώσει, αλλά και θα ανταγωνιστεί τις ήδη καθιερωμένες πηγές παραγωγής, οι οποίες βασίζονται κυρίως στη ανάπτυξη βακτηριακών καλλιεργειών και τροποποιημένων κυτταρικών σειρών θηλαστικών.

**Molecular Farming:** η χρήση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών για την παραγωγή χημικών προϊόντων και συμπληρωμάτων διατροφής

**Molecular Pharming:** η παραγωγή φαρμακευτικών ουσιών σε γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς (κυρίως φυτά)



## Βασικά πλεονεκτήματα της Μοριακής Γεωργίας

Η διαθεσιμότητα της πρώτης ύλης, το εύρος και η ποικιλία των ανασυνδεμένων μορίων που μπορούν θεωρητικά να παραχθούν καθώς και η δυνατότητα παραγωγής δυνητικά απεριόριστων ποσοτήτων μιας ετερόλογης πρωτεΐνης.

Παράλληλα, αντίθετα με τα βακτήρια, τα φυτά διαθέτουν συστήματα μοριακής αναδίπλωσης και μπορούν να παράγουν πολυ-πρωτεΐνες όπως αντισώματα, σωστά δομημένες, χωρίς να απαιτείται περαιτέρω επεξεργασία. Είναι χαρακτηριστικό ότι το 60% του συνολικού κόστους παραγωγής της ανθρώπινης ινσουλίνης από βακτήρια σχετίζεται με την *in vitro* επεξεργασία της πρωτεΐνης για την απόκτηση της σωστής λειτουργικής στερεοδιαμόρφωσης.

Τέλος, οι φυτικές πρωτεΐνες θεωρούνται πιο ασφαλείς, καθώς τα φυτά δεν αποτελούν ξενιστές για ανθρώπινους παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως ο ιός της ηπατίτιδας, ο ερπητοϊός και ο HIV (Human Immunodeficiency Virus, ανθρώπινος ανοσοελλειμματικός ιός).

# **1. Εμπορικά Διαθέσιμες Πρωτεΐνες Παραγόμενες από Γενετικά Τροποποιημένα Φυτά**

Το 2004 κυκλοφόρησε στην αγορά από την αμερικάνικη εταιρεία ProdiGene η πρώτη πρωτεΐνη που παράχθηκε μέσω γενετικής τροποποίησης φυτών. Πρόκειται για την πρωτεΐνη με την εμπορική ονομασία TrypZean, η οποία είναι ανασυνδυασμένη τρυψίνη εκφρασμένη στο καλαμπόκι. Το αρχικό γονίδιο προήλθε από βοοειδή, τα οποία ανέκαθεν αποτελούσαν πηγή για την παραγωγή και απομόνωση της εν λόγω πρωτεΐνης. Τα τελευταία όμως χρόνια, λόγω των αυξημένων κρουσμάτων σπογγώδους εγκεφαλίτιδας των βοοειδών, η ανάγκη εναλλακτικών πηγών παραγωγής έγινε επιτακτική. Σήμερα, είναι εμπορικά διαθέσιμες περισσότερες από 10 πρωτεΐνες (Πίνακας 1).

**Πίνακας 1.** Εμπορικά διαθέσιμες πρωτεΐνες παραγόμενες από γενετικά τροποποιημένα φυτά

Όνομασία προϊόντος	Διαγονιδιακό φυτό	Πηγή γονιδίου	Εμπορική χρήση	Εταιρεία παραγωγής
Αβιδίνη	Καλαμπόκι	Κοτόπουλο	Έρευνα - Διάγνωση	ProdiGene (ΗΠΑ)
Απροτινίνη	Καλαμπόκι	Αγελάδα	Έρευνα - Διάγνωση	ProdiGene (ΗΠΑ)
Τρυψίνη	Καλαμπόκι	Βοοειδή	Έρευνα - Διάγνωση	ProdiGene (ΗΠΑ)
Λυσοζύμη	Ρύζι	Άνθρωπος	Έρευνα	Ventria Biosc. (ΗΠΑ)
Λακτοφερίνη	Ρύζι	Άνθρωπος	Έρευνα	Ventria Biosc. (ΗΠΑ)
Κελλουλάση	Καλαμπόκι	Μύκητας	Παραγωγή αιθανόλης	Applied Biotech. Institute (ΗΠΑ)
Υπεροξειδάση	Καλαμπόκι	Μύκητας	Λεύκανση χαρτιού	Applied Biotech. Institute (ΗΠΑ)
Λακάση	Καλαμπόκι	Μύκητας	Λεύκανση χαρτιού	Applied Biotech. Institute (ΗΠΑ)
Χυμοσίνη	Κάρδαμο	Βοοειδή	Τυροκομία	SemBioSys (Καναδάς)
Τρανσκοβαλαμίνη	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Άνθρωπος	Έρευνα - Διάγνωση	Cobento AS (Δανία)



Η εφαρμογή τους είναι κυρίως βιομηχανική, όπως η περίπτωση της κελλουλάσης (cellulase), του ενζύμου αποικοδόμησης της κυτταρίνης σε γλυκόζη. Η γλυκόζη μπορεί εν συνεχεία να χρησιμοποιηθεί από μικροοργανισμούς για την παραγωγή βιοκαυσίμων (βιοαιθανόλης). Το γονίδιο της κελλουλάσης, προερχόμενο από μύκητες, εκφράστηκε στο καλαμπόκι, δίνοντας μεγάλες ποσότητες του λειτουργικού ενζύμου. Αντίστοιχα, η υπεροξειδάση και η λακάση είναι οξειδωτικά ένζυμα του μύκητα, που εκφράστηκαν επίσης στο καλαμπόκι. Οι εν λόγω ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες βρίσκουν εφαρμογή στον αποχρωματισμό και την λεύκανση του χαρτιού, ενώ η απροτινίνη, η λυσοζύμη και η αβιδίνη χρησιμοποιούνται για ερευνητικούς και διαγνωστικούς, μη θεραπευτικούς σκοπούς.

## **2. Παραγωγή Φαρμακευτικών Ουσιών από Διαγονιδιακά Φυτά**

Η πρώτη ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, προερχόμενη από γενετικά τροποποιημένα φυτά, ήταν η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη, που απομονώθηκε από φύλλα διαγονιδιακού καπνού, το 1986. Σήμερα, αν και έχει γίνει εφικτή η παραγωγή σε διαγονιδιακά φυτά μια σειράς ουσιών με φαρμακευτική δράση, όπως αντισώματα, **εμβόλια**, ορμόνες και ένζυμα, καμία ουσία δεν πωλείται στην αγορά. Παρόλα αυτά, αρκετές βρίσκονται στο στάδιο των κλινικών δοκιμών για την αντιμετώπιση ανθρώπινων ασθενειών.

### **3. Παραγωγή Αντισωμάτων**

Ο καπνός, το τριφύλλι, η σόγια, το καλαμπόκι, το σιτάρι και το ρύζι είναι τα κυριότερα είδη φυτών που έχουν χρησιμοποιηθεί στη μοριακή γεωργία για τη παραγωγή αντισωμάτων. Τα «πράσινα φυτά», ο καπνός, το τριφύλλι και η σόγια, υπερέχουν σε παραγωγικότητα και στο σχετικά μικρότερο βαθμό δυσκολίας που απαιτείται για τη γενετική τους τροποποίηση. Αντίθετα το καλαμπόκι, το σιτάρι και το ρύζι πλεονεκτούν στο γεγονός ότι παράγουν σπόρους, οι οποίοι μπορούν να αποθηκευτούν και να διατηρηθούν αναλλοίωτοι για μεγάλο χρονικό διάστημα. Επίσης, οι σπόροι σε σχέση με τα φύλλα έχουν λιγότερα μίγματα πρωτεϊνών και λιπιδίων κάνοντας ευκολότερη την απομόνωση της ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης.



safflower



Καπνός (tobacco)



Ρύζι (rice)



Καλαμπόκι (maize)



Πατάτες (potatoes)

Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα αντισώματος που προήλθε από γενετική τροποποίηση φυτών, αποτελεί το εκκριτικό αντίσωμα IgA (Guy's 13) που αναγνωρίζει τα επιφανειακά μόρια προσκόλλησης, αντιγόνα I/II, του *Streptococcus mutans*, του βακτηρίου που είναι η κύρια αιτία εκδήλωσης τερηδόνας. Για την παραγωγή του, αρχικά δημιουργήθηκαν τέσσερα διαγονιδιακά φυτά καπνού (*Nicotiana tabacum*), καθένα από τα οποία εξέφραζε και ένα διαφορετικό τμήμα του ανασυνδυασμένου αντισώματος, μια αλυσίδα από το IgK αντίσωμα του ποντικού, μια χιμαιρική IgA/IgG αλυσίδα, μια συνδετική αλυσίδα και μια εκκριτική υπομονάδα κουνελιού αντίστοιχα. Γενετικές διασταυρώσεις ανάμεσα σε αυτά τα φυτά έδωσαν τελικά ένα φυτό το οποίο εξέφραζε και τις τέσσερις πρωτεϊνικές αλυσίδες ταυτόχρονα, δίνοντας ένα λειτουργικό μονοκλωνικό αντίσωμα. Το αντίσωμα απομονώθηκε και αποδείχθηκε ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην πρόληψη αποικισμού της στοματικής κοιλότητας από το *S. mutans*. Σήμερα, αποτελεί το μοναδικό αντίσωμα, παραγόμενο σε διαγονιδιακά φυτά, που βρίσκεται στη φάση II των κλινικών δοκιμών.

Σε πιο πρωταρχικό στάδιο βρίσκεται η μελέτη για το αντίσωμα έναντι του *ερπητοϊού*, προερχόμενο από διαγονιδιακό τριφύλλι, καθώς και για τα αντισώματα για το αδενοκαρκίνωμα, τον καρκίνο του παχέος εντέρου, και το λέμφωμα *Non-Hodgkin* (Πίνακας 2).

**Πίνακας 2.** Αντισώματα παραγόμενα σε γενετικά τροποποιημένα φυτά που βρίσκονται σε φάση κλινικών δοκιμών

Όνομασία προϊόντος	Διαγονιδιακό φυτό	Κλινική εφαρμογή	Φάση κλινικής δοκιμής
IgA (Guy's 13)	Καπνός	Στοματική υγεία - τερηδόνα	II
scFv antibodies	Καπνός	Λέμφωμα <i>Non-Hodgkin</i>	I
Anti-HSV-2 (IgG) BR55-2	Τριφύλλι Καπνός	<i>Ερπητοϊός (HSV-2)</i> Καρκίνος του μαστού, καρκίνος του παχέος εντέρου	I I
CO17-1A (IgG)	Καπνός	Καρκίνος του παχέος εντέρου, αδenoκαρκίνωμα	I
Rhino RX (ICAM1)	Καπνός	Αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV)	I
CB-Hep.1	Καπνός	Παρασκευή εμβολίου κατά της ηπατίτιδας B	*

\*Έγκριση χρήσης από την υπηρεσία ελέγχου φαρμάκων της Κούβας το 2006



## 4. Παραγωγή Εμβολίων



Οι συμβατικοί μέθοδοι παραγωγής εμβολίων βασίζονται σε σύνθετες, ιδιαίτερα υψηλού κόστους μεθόδους έκφρασης, παραγωγής και απομόνωσης. Το κόστος παραγωγής αυξάνεται περεταίρω αν συνυπολογιστούν τα έξοδα για την αποθήκευση και μεταφορά των εμβολίων σε χαμηλή, ελεγχόμενη θερμοκρασία, καθώς και για τη χορήγηση κάτω από στείρες συνθήκες. Είναι χαρακτηριστικό ότι το συνολικό κόστος έχει τουλάχιστον δεκαπλασιαστεί τη τελευταία δεκαετία, κάνοντας ακόμα δυσκολότερο το πρόγραμμα μαζικών εμβολιασμών για την αντιμετώπιση και τον περιορισμό της εξάπλωσης μολυσματικών ασθενειών, κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες. Η παραγωγή εμβολίων σε διαγονιδιακά φυτά εμφανίζεται ως μια εναλλακτική μέθοδος που δυνητικά μπορεί να προσφέρει μια αξιόπιστη λύση στο εν λόγω πρόβλημα, καθώς η πρόσληψη του εμβολίου μπορεί θεωρητικά να γίνει μέσω της τροφής, γεγονός που θα μειώσει αισθητά το κόστος και θα απλοποιήσει τη διαδικασία του εμβολιασμού.

Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα παραγωγής εμβολίου για την ηπατίτιδα Β από γενετικά τροποποιημένες πατάτες. Πειράματα σε ποντίκια έδειξαν ότι καταναλώνοντας τις διαγονιδιακές αυτές πατάτες, ενεργοποιείται το ανοσοποιητικό σύστημα, με την παραγωγή αντισωμάτων έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β, ότι δηλαδή συμβαίνει και μετά τον κλασικό εμβολιασμό με το αντίστοιχο εμπορικό προϊόν. Σήμερα, το εμβόλιο βρίσκεται στη φάση Ι των κλινικών δοκιμών με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Παρόμοιες μελέτες οδήγησαν στην παραγωγή εμβολίου έναντι ενός παθογόνου στελέχους του *E. coli*, το οποίο προκαλεί γαστρεντερικές παθήσεις στον άνθρωπο. Γενετικά τροποποιημένα φυτά σόγιας στα οποία εκφράζεται μια υπομονάδα της εντεροτοξίνης του *E. coli*, χορηγήθηκαν δια βρώσης σε ποντίκια. Τα πειραματόζωα που κατανάλωσαν το διαγονιδιακό φυτό εμφάνισαν αυξημένα επίπεδα ανοσοσφαιρινών IgA και IgG και μερική προστασία έναντι της τοξίνης. Για την παραγωγή του συγκεκριμένου εμβολίου έχουν επίσης γενετικά τροποποιηθεί φυτά καρότου, πατάτας και καλαμποκιού και οι κλινικές δοκιμές έχουν ήδη ξεκινήσει. Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται συνοπτικά τα κυριότερα εμβόλια που έχουν παραχθεί με γενετική τροποποίηση φυτών, η φαρμακευτική εφαρμογή τους, καθώς και η φάση της κλινικής δοκιμής στην οποία βρίσκονται.

**Πίνακας 3.** Εμβόλια παραγόμενα από γενετικά τροποποιημένα φυτά που βρίσκονται στη φάση κλινικών δοκιμών

Όνομασία προϊόντος	Διαγονιδιακό φυτό	Κλινική εφαρμογή	Φάση κλινικής δοκιμής
Hepatitis B surface antigen (HBsAg)	Πατάτα	Ηπατίτιδα Β	I
<i>E. coli</i> heat labile toxin (LT) B subunit	Σόγια	Διάρροια - <i>E. coli</i>	I
	Καρότο		I
	Πατάτα		I
	Καλαμπόκι		I
<i>Vibrio cholerae</i>	Πατάτα	Χολέρα	I
	Ρύζι		I
	Ντομάτα		I
Norwalk virus capsid protein	Πατάτα	Γαστρεντερίτιδα - Ιός Norwalk	I
	Ντομάτα		
Rabies glycoprotein	Σπανάκι	Λύσσα	I
<i>Plasmodium yoelii</i> surface protein PγMSP4/5	Καπνός	Ελονοσία - Πλασμώδιο	I

Από τον συγκεκριμένο πίνακα συμπεραίνεται ότι:

- Έχουν αναπτυχθεί εμβόλια που καλύπτουν ένα μεγάλο φάσμα παθογόνων μικροοργανισμών, όπως ιούς (HPV – ηπατίτιδα Β), βακτήρια (*E. coli* - γαστρεντερίτιδα) και πρωτόζωα (πλασμώδιο - ελονοσία)

- Η πατάτα και η ντομάτα αποτελούν συνήθη συστήματα έκφρασης, λόγω της ευκολίας χορήγησης του παραγόμενου εμβολίου δια βρώσης

- Κανένα εμβόλιο παραγόμενο από διαγονιδιακά φυτά, δεν έχει περάσει στη φάση II των κλινικών δοκιμών, αναδεικνύοντας τη δυσκολία του εγχειρήματος

Αξίζει πάντως να αναφερθεί ότι η εταιρεία Dow Agrosiences (ΗΠΑ) έχει από το 2006 πάρει την έγκριση του FDA (Food and Drug Administration) των ΗΠΑ για την εμπορική προώθηση ενός εμβολίου, προερχόμενου από γενετικά τροποποιημένα φύλλα καπνού, έναντι της μόλυνσης των πουλερικών από τον ιό Newcastle.

**Medicago and GSK start Phase 3 trial of  
adjuvanted COVID-19 vaccine candidate  
17/03/2021**

medicago



GlaxoSmithKline (GSK) and Canadian biopharma company Medicago have launched a Phase III trial of their adjuvanted plant-derived COVID-19 vaccine candidate. The vaccine candidate uses Coronavirus-Like-Particle (CoVLP) technology, composed of recombinant spike (S) glycoprotein expressed as virus-like-particles (VLPs) administered alongside GSK's pandemic adjuvant. Medicago said it has received approval from Canadian and US regulatory authorities to begin enrolment of healthy adults into the Phase III trial based on 'positive interim Phase II results'. The adjuvanted plant-derived vaccine candidate received a fast track designation from the US Food and Drug Administration (FDA) in February 2021. The Phase III portion of the study will evaluate the efficacy and safety of the adjuvanted CoVLP formulation and will enrol up to 30,000 participants. Initially, the trial will enrol healthy adults aged 18 to 65 years old, followed by elderly adults aged 65 and over and adults with comorbidities. The companies added that the Phase II trial of the vaccine is nearing completion, with results expected to be made public in April 2021. "We are pleased to take the significant step of initiating the Phase III clinical trial at sites around the world," said Takashi Nagao, chief executive officer and president of Medicago. "This brings us one step closer to delivering an important new COVID-19 vaccine and contributing to the global fight against the pandemic along with our partner GSK," he added.

[http://www.pharmatimes.com/news/gsk\\_medicago\\_launch\\_late-stage\\_trial\\_of\\_plant-derived\\_covid-19\\_vaccine\\_1365371](http://www.pharmatimes.com/news/gsk_medicago_launch_late-stage_trial_of_plant-derived_covid-19_vaccine_1365371)



## **5. Παραγωγή Άλλων Φαρμακευτικών Ουσιών**

Η νόσος Gaucher είναι μια κληρονομική ασθένεια με συχνότητα εμφάνισης 1 στις 20.000 γεννήσεις. Προκαλείται από μια αυτοσωματικού υπολειπόμενου τύπου ανεπάρκεια του ενζύμου γλυκοσερεμπροσιδάση (glucocerebrosidase). Η γλυκοσερεμπροσιδάση συμβάλλει στην αποικοδόμηση ενός συγκεκριμένου είδους λιπιδίων, των γλυκοσουλκεραμιδίων. Συσσώρευση ενδοκυτταρικών γλυκοσουλκεραμιδίων προκαλεί σοβαρές παθολογικές καταστάσεις, όπως διόγκωση διαφόρων οργάνων, όπως ο σπλήνας και το ήπαρ, αναιμία, καρδιοπνευμονική νόσο ή νευροεκφυλιστικά σύνδρομα, συμπεριλαμβανομένων της παρεγκεφαλικής αταξίας και μυοκλονικής επιληψίας. Μέχρι σήμερα, η μοναδική διαθέσιμη θεραπεία βασίζεται στη χορήγηση του φαρμάκου Cerezyme της εταιρείας Genzyme. Είναι χαρακτηριστικό ότι το Cerezyme, που παρασκευάζεται από γενετικά τροποποιημένα κύτταρα ποντικών, κοστίζει 200.000 δολάρια το χρόνο για το μέσο ασθενή. Είναι προφανές, ότι η ανάγκη ύπαρξης εναλλακτικών πηγών παραγωγής είναι επιτακτική.

Τον Οκτώβριο του 2009, η ισραηλινή εταιρεία βιοτεχνολογίας Protalix ανακοίνωσε ότι το προϊόν της, με την κωδική ονομασία UPLYSO, ολοκλήρωσε με επιτυχία τη φάση III των κλινικών δοκιμών και η εταιρεία ετοιμάζεται να υποβάλει αίτηση έγκρισης νέου φαρμάκου στο FDA. Το UPLYSO πρόκειται για την ανθρώπινη ανασυνδυασμένη γλυκοσερεμπροσιδάση, που παράχθηκε μέσω γενετικής τροποποίησης καρότων. Οι κλινικές δοκιμές έδειξαν ότι χορήγηση του ανασυνδυασμένου ενζύμου σε ασθενείς με τη νόσο Gaucher συμβάλλει σημαντικά στην βελτίωση της κλινικής τους εικόνας. Παράλληλα, συγκριτικές δοκιμές έδειξαν ότι το UPLYSO είναι το ίδιο αποτελεσματικό με το Cerezyme. Αυτό οδήγησε πρόσφατα και την εταιρεία Pfizer να δαπανήσει πάνω από 100 εκ. δολάρια για να αποκτήσει από την Protalix τα αποκλειστικά δικαιώματα για την ανάπτυξη και την εμπορία του UPLYSO για τη νόσο Gaucher.

Το UPLYSO είναι μέχρι στιγμής η μοναδική φαρμακευτική ουσία, παραγόμενη σε διαγονιδιακά φυτά, που έχει ολοκληρώσει την φάση III των κλινικών δοκιμών και είναι πολύ κοντά στην είσοδο της στην αγορά. Υπάρχουν όμως και άλλες ουσίες, που εμφανίζουν μεγάλο ενδιαφέρον και βρίσκονται ήδη σε φάση II, όπως η Locteron, ανασυνδυασμένη ιντερφερόνη-α, για την ηπατίτιδα C και η γαστρική λιπάση για τη κυστική ίνωση (Πίνακας 4).

**Πίνακας 4.** Θεραπευτικές πρωτεΐνες παραγόμενες από γενετικά τροποποιημένα φυτά που βρίσκονται σε φάση κλινικών δοκιμών

Όνομασία προϊόντος	Διαγονιδιακό φυτό	Κλινική εφαρμογή	Φάση κλινικής δοκιμής
UPLYSO	Καρότο	Γλυκοσερεμπροσιδάση σύνδρομο Gaucher	III
Locteron	Λέμνα (duckweed)	ιντερφερόνη α Ηπατίτιδα C	II
γαστρική λιπάση	Πατάτα	Κυστική ίνωση	II
	Καπνός		II
Ανθρώπινος Ενδογενής Παράγοντας (Human IF)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Ανεπάρκεια βιταμίνης B12	II

<https://protalix.com/about/elelyso/>



## ABOUT ELELYSO<sup>®</sup>/UPLYSO<sup>™</sup>

On May 1, 2012, the U.S. Food and Drug Administration (FDA) approved taliglucerase alfa for injection, as an enzyme replacement therapy (ERT) for the long-term treatment of adult patients with a confirmed diagnosis of type 1 Gaucher disease. Taliglucerase alfa is a proprietary, recombinant form of glucocerebrosidase (GCD). **Taliglucerase alfa is the first plant cell-based recombinant therapeutic protein approved by the FDA.** In 2009 Protalix entered into a collaboration agreement with Pfizer Inc. for the continued development and commercialization of [Elelyso<sup>®</sup>](#). In October 2015, this agreement was amended providing Pfizer worldwide marketing rights for Elelyso<sup>®</sup>

# First plant-made biologic approved

Jeffrey L Fox

*Nature Biotechnology* **30**, 472(2012) | [Cite this article](#)

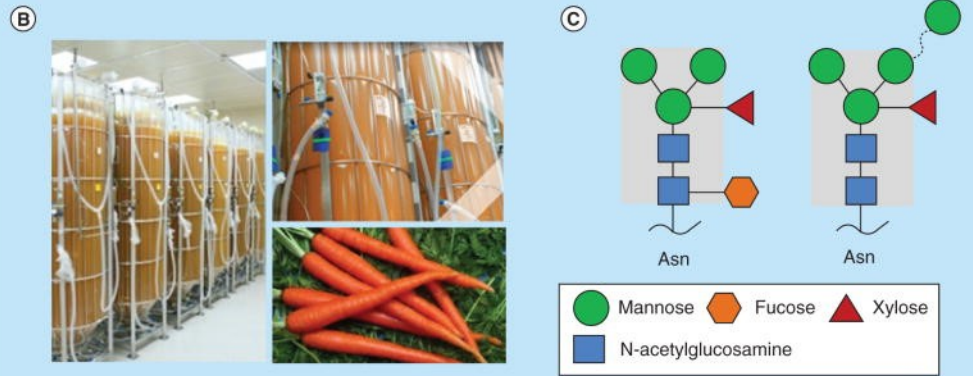
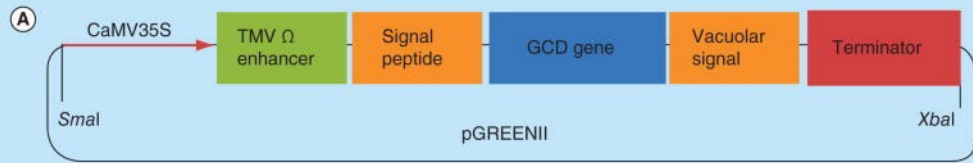
**1073** Accesses | **63** Citations | **24** Altmetric | [Metrics](#)

The US Food and Drug Administration in May approved Eleyso (taliglucerase alfa), an enzyme produced in genetically engineered carrot cells, for treating type 1 Gaucher's disease. This is the first plant-made drug approved by the regulators, and for Israeli company Protalix BioTherapeutics of Carmiel, it is the first product made in their ProCellEx protein expression system to reach the market. The plant cell platform produces recombinant proteins with a glycan and amino acid structure similar to naturally produced human counterparts. Some 10,000 patients worldwide have Gaucher's, a rare genetic disorder in which individuals fail to produce the enzyme glucocerebrosidase. Eleyso, a recombinant form of human glucocerebrosidase, which is injectable, replaces that enzyme and thus prevents lipids from accumulating in organs and tissues, eventually damaging the liver and spleen, leading to low red blood cell and platelet counts, and bone problems. Protalix and US partner Pfizer of New York are



Carrot cell bioreactors







## **6. Υφιστάμενοι Ανασταλτικοί Παράγοντες, Τεχνολογικοί Περιορισμοί και Θέματα Ασφάλειας**

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα, μέχρι σήμερα καμία φαρμακευτική ουσία, παραγόμενη από γενετικά τροποποιημένα φυτά, δεν είναι εμπορικά διαθέσιμη, για την αντιμετώπιση ανθρώπινων ασθενειών. Ο κυριότερος τεχνολογικός περιορισμός είναι ότι τα επίπεδα έκφρασης και συγκέντρωσης των ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών είναι ιδιαίτερα χαμηλά. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα των ετερόλογων πρωτεϊνών που παράγονται σε διαγονιδιακά φυτά δε ξεπερνούν το 1% της συνολικής ποσότητας διαλυτής πρωτεΐνης, καθιστώντας την παραγωγή τους σε μεγάλη κλίμακα για εμπορική εκμετάλλευση οικονομικά ασύμφορη. Για παράδειγμα, το ποσοστό έκφρασης σε γενετικά τροποποιημένα καρότα, του αντιγόνου για την υπομονάδα της τοξίνης B του εντεροπαθογόνου βακτηρίου *E. coli*, είναι το 0.3% της συνολικής ποσότητας διαλυτής πρωτεΐνης και αντίστοιχα μόλις το 0.081% για την υπομονάδα της τοξίνης B του *Vibrio cholera* εκφρασμένης σε διαγονιδιακή ντομάτα.

Μια από τις κύριες αιτίες του προβλήματος είναι το φαινόμενο της γονιδιακής αποσιώπησης (gene silencing). Στα φυτά, η γονιδιακή αποσιώπηση εμφανίζεται ως συστατικό μέρος του αμυντικού μηχανισμού κυρίως έναντι ιϊκών μολύνσεων, αλλά και συμμετέχει στη ρύθμιση της ενδογενούς γονιδιακής έκφρασης σε μια ποικιλία από αναπτυξιακές διαδικασίες. Η γονιδιακή αποσιώπηση μπορεί να συμβεί είτε σε μεταγραφικό ή σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο και να οδηγήσει σε καταστολή του διαγονιδίου. Στη πρώτη περίπτωση, παρατηρείται μεθυλίωση του DNA, τροποποίηση των ιστονών και αλλαγή της δομής της χρωματίνης σε ετεροχρωματίνη, με αποτέλεσμα την τοπική καταστολή της γονιδιακής έκφρασης. Στη δεύτερη περίπτωση, συμβαίνει στοχευμένη αποικοδόμηση του μεταγραφικού RNA (mRNA) του διαγονιδίου μέσω της αλληλεπίδρασής του με μικρά μονόκλιωνα μόρια RNA, γνωστά ως αντισημαίνοντα (antisense) RNAs. Τα αντισημαίνοντα RNAs αναγνωρίζουν και προσδέονται σε μια συμπληρωματική αλληλουχία του mRNA, αναστέλλοντας έτσι τη μετάφρασή της και κατ' επέκταση και την παραγωγή της συγκεκριμένης ετερόλογης πρωτεΐνης. Ο ρυθμός καταστολής της έκφρασης του διαγονιδίου φαίνεται να είναι ανάλογος των επιπέδων έκφρασης και του αριθμού των αντίγραφων του που εισέρχονται στο φυτικό κύτταρο.

Γι' αυτό και μία από τις προτεινόμενες τεχνικές λύσεις είναι η χρήση του *Agrobacterium tumefaciens* για την εισαγωγή μικρού αριθμού αντιγράφων του διαγονιδίου αντί της μεθόδου του βομβαρδισμού με μικροσφαιρίδια. Μια εναλλακτική προσέγγιση είναι η εισαγωγή του διαγονιδίου στους χλωροπλάστες καθώς μέχρι σήμερα δεν έχει αναφερθεί η εμφάνιση του φαινομένου της γονιδιακής αποσιώπησης μετά την εισαγωγή ένθετου DNA στο χλωροπλαστικό γονιδίωμα. Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι με την εν λόγω μέθοδο είναι εφικτή η παραγωγή σε διαλυτή, βιολογικά ενεργή μορφή, της ανθρώπινης ορμόνης σωματοτροπίνης, σε χλωροπλάστες καπνού, και σε συγκέντρωση που ξεπερνά το 7% της συνολικής ποσότητας διαλυτής πρωτεΐνης, περίπου 300 φορές υψηλότερης της αντίστοιχης ποσότητας που επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας την κλασική μέθοδο πυρηνικής ενσωμάτωσης του διαγονιδίου.

Ένα εξίσου σημαντικό τεχνολογικό ζήτημα σχετικό με την παραγωγή ανασυνδυασμένων φαρμακευτικών πρωτεϊνών στα φυτά, για την αντιμετώπιση ανθρώπινων ασθενειών, είναι οι βασικές διαφορές στα πρότυπα γλυκοσυλίωσης των φυτικών πρωτεϊνών σε σχέση με τις αντίστοιχες του ανθρώπου. Πιο συγκεκριμένα, κατά τη N-γλυκοσυλίωση των πρωτεϊνών στα φυτά προστίθενται οι μονοσακχαρίτες  $\alpha$ -(1,3)-φουκόζη και  $\beta$ -(1,2)-ξυλόζη, ενώ αντίθετα απουσιάζουν η  $\beta$ -(1,4)-γαλακτόζη και το σιαλικό οξύ καθώς τα φυτά δε διαθέτουν τους αντίστοιχους ενζυματικούς μηχανισμούς προσθήκης. Η παρουσία  $\alpha$ -(1,3)-φουκόζης και  $\beta$ -(1,2)-ξυλόζης έχει αποδειχτεί ότι ενέχεται στην εκδήλωση ανοσολογικής απόκρισης και αλλεργικής αντίδρασης στον άνθρωπο, εγείροντας ένα σημαντικό θέμα ασφάλειας του τελικού προϊόντος. Παράλληλα, η  $\beta$ -(1,4)-γαλακτόζη παίζει σημαντικό ρόλο στη σωστή αναδίπλωση των αντισωμάτων και κατ' επέκταση στην φαρμακοκινητική τους ενεργότητα και θεραπευτική τους δράση.

Έχουν αναφερθεί διάφορες μέθοδοι για τη τροποποίηση της διαδικασίας γλυκοσυλίωσης ετερόλογων πρωτεϊνών στα φυτά, ώστε το τελικό προϊόν να μπορεί να έχει εφαρμογή στον άνθρωπο. Μπορεί να γίνει στοχευμένος περιορισμός των πρωτεϊνών στο ενδοπλασματικό δίκτυο, αναστολή της δράσης των φυτικών γλυκοτρανσφερασών με γονιδιακή αποσιώπηση ή εισαγωγή και ενεργοποίηση των αντίστοιχων ενζύμων του ανθρώπου. Αν και τα πρώτα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά, περαιτέρω ερευνητικές μελέτες απαιτούνται για τη πλήρη αντιμετώπιση του συγκεκριμένου ζητήματος.

Η ασφαλής χρήση των φαρμακευτικών ουσιών, που παράγονται μέσω γονιδιακής τροποποίηση φυτών, από τον άνθρωπο, αλλά και οι πιθανές αρνητικές επιπτώσεις της μοριακής γεωργίας στο περιβάλλον, εγείρουν έντονο προβληματισμό και ανησυχία, τόσο σε ανεξάρτητες περιβαλλοντολογικές και καταναλωτικές οργανώσεις, όσο και στις αρμόδιες εποπτικές αρχές, οι οποίες και επιβάλλουν αυστηρά πρόστιμα και κυρώσεις σε περιπτώσεις παραβίασης των προβλεπόμενων διαδικασιών. Χαρακτηριστική είναι η περίπτωση της εταιρείας ProdiGene (USA) στην οποία επιβλήθηκε το 2002 πρόστιμο ύψους 250χιλ. δολαρίων από το υπουργείο Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA). Η συγκεκριμένη εταιρεία πραγματοποίησε το 2001 στη Νεμπράσκα των ΗΠΑ, πειράματα γενετικής τροποποίησης αραβόσιτου, για τη παραγωγή ενός εμβολίου για γουρούνια.

# ProdiGene Fined for Biotechnology Blunders

SHARE THIS

**Dec 10, 2002**

WASHINGTON, DC, December 9, 2002 (ENS) - ProdiGene Inc., the company that allowed genetically engineered corn to contaminated about 500,000 bushels of soybeans, will pay a \$250,000 fine - the first such penalty levied by the federal government. On Friday, the U.S. Department of Agriculture (USDA) and the Food and Drug Administration (FDA) reached an agreement that settles violations of the Plant Protection Act (PPA) involving ProdiGene. While ProdiGene neither admitted nor denied any violations of the PPA, the company will pay a civil penalty of \$250,000.

ProdiGene has also agreed to set aside a \$1 million bond to guarantee that it can pay for any future lapses, and submit to stricter standards for complying with federal biotechnology regulations, including a requirement for additional federal approvals before field testing and harvesting genetically modified material. The company will develop a written program with the USDA to ensure that its employees, agents and managers comply with the Plant Protection Act, federal regulations and permit conditions.

"We are pleased to put recent allegations behind us, and are optimistic about the future of bio-pharmaceuticals and their regulation," said Anthony Laos, president and CEO of ProdiGene. "We have learned some valuable lessons, and we hope the entire industry will benefit from our endeavors as we work with USDA on an enhanced compliance program.": (<http://ens-news.com/ens/dec2002/2002-12-09-09.asp#anchor1>)



Τον επόμενο χρόνο σε συμβατική καλλιέργεια σόγιας που αναπτύχθηκε στον ίδιο αγρό, ανιχνεύτηκε μια μικρή ποσότητα του γενετικά τροποποιημένου αραβόσιτου που έφερε το διαγονίδιο. Η εταιρεία υποχρεώθηκε, επιπλέον του προστίμου, να συλλέξει και να καταστρέψει όλη την καλλιέργεια της σόγιας, με συνολικό κόστος περίπου 3εκ. δολάρια. Παράλληλα, πλήρωσε 1εκ. δολάρια ως εγγύηση για τα μελλοντικά της πειράματα. Παρόμοια περιστατικά έχουν αναφερθεί και για άλλες εταιρείες που ασχολούνται με τη καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών για την παραγωγή φαρμακευτικών ουσιών, αναγκάζοντας την Υπηρεσία Ελέγχου Υγείας Φυτών και Ζώων (Animal and Plant Health Inspection Service – APHIS) του υπουργείου Γεωργίας των ΗΠΑ (<http://www.aphis.usda.gov/>) στη κατάθεση ενός αυστηρού πλαισίου δράσης, οι βασικότερες παράμετροι του οποίου είναι οι εξής:

- Η ελάχιστη απόσταση μεταξύ δύο γειτονικών αγρών, ιδιαίτερα για την περίπτωση καλλιέργειας γενετικά τροποποιημένου αραβόσιτου, ορίζεται το 1 μίλι (1μίλι = 1.6km).
- Η ζώνη απομόνωσης, περιμετρικά του αγρού, πρέπει να είναι τουλάχιστον 15 μέτρα.
- Απαγορεύεται η ανάπτυξη συμβατικής ή βιολογικής καλλιέργειας για ζωοτροφή ή για κατανάλωση από τον άνθρωπο, στον ίδιο αγρό, τον επόμενο χρόνο.
- Επιβάλλεται η χρήση εξειδικευμένου εξοπλισμού για την καλλιέργεια και τη συγκομιδή, καθώς και η ύπαρξη ειδικών εγκαταστάσεων για τη φύλαξη και αποθήκευση του καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.
- Το πρόγραμμα κατάρτισης και εκπαίδευσης του προσωπικού καθώς και όλα τα πειραματικά πρωτόκολλα πρέπει να έχουν την έγκριση της υπηρεσίας APHIS. Επιπλέον, απαιτείται λεπτομερής διατήρηση αρχείου δοκιμών, το οποίο επίσης θα ελέγχεται από την APHIS.
- Η APHIS θα διενεργεί επιτόπιους δειγματοληπτικούς ελέγχους στους αγρούς, 5 φορές κατά την καλλιεργητική περίοδο και άλλες 2 φορές για την αξιολόγηση των αυτοφυών φυτών του επόμενου έτους.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products – EMEA), έχει εκδώσει αντίστοιχο μνημόνιο με οδηγίες προς κάθε ενδιαφερόμενη εταιρεία που πρόκειται να καταθέσει αίτηση για χορήγηση άδειας κυκλοφορίας στην ευρωπαϊκή αγορά, φαρμακευτικών προϊόντων προερχόμενων από γενετικά τροποποιημένα φυτά. Το μνημόνιο καλύπτει τόσο την αξιολόγηση της ποιότητας και ασφάλειας του φαρμάκου όσο και τη μελέτη των πιθανών περιβαντολλογικών του επιπτώσεων (<http://www.efsa.europa.eu/>).

## **7. Μελλοντικές τάσεις**

Η μοριακή γεωργία εμφανίζει ιδιαίτερη άνθηση τα τελευταία χρόνια. Είναι χαρακτηριστικό, ότι η Ευρωπαϊκή Ένωση χρηματοδότησε πρόσφατα με 12εκ. ευρώ, στα πλαίσια του 6<sup>ου</sup> ευρωπαϊκού προγράμματος στήριξης, τη δημιουργία της κοινοπραξίας Pharma-Planta Consortium με τη συμμετοχή 12 ευρωπαϊκών χωρών και της Νότιας Αφρικής, και συνολικά 39 ακαδημαϊκών εργαστηρίων και εταιρειών. Ο σκοπός της κοινοπραξίας ήταν η ανάπτυξη αποτελεσματικών τρόπων παραγωγής φαρμακευτικών ουσιών προερχόμενων από διαγονιδιακά φυτά καθώς και ο έλεγχος και η αξιολόγηση της ασφαλούς τους χρήσης σύμφωνα με το ευρωπαϊκό δίκαιο. Παράλληλα, στις ΗΠΑ οι εταιρείες βιοτεχνολογίας επενδύουν τεράστια ποσά στην έρευνα και ανάπτυξη της μοριακής γεωργίας. Σε μια σχετική έκθεση, η Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων του Καναδά (Canadian Food Inspection Agency – CFIA) αναφέρει ότι η ζήτηση στις ΗΠΑ μόνο, παρουσιάζει ετήσιο ρυθμό αύξησης 13% (<http://www.inspection.gc.ca/english/toce.shtml>). Η αντίστοιχη αξία αγοράς υπολογίστηκε για το 2004 στα 28δισ δολάρια και αναμένεται να ξεπεράσει παγκοσμίως τα 100 δισ δολάρια μέχρι το 2020 (<http://www.molecularfarming.com/about.html>).

Η μοριακή γεωργία αποτελεί ένα εν δυνάμει ιδανικό σύστημα οικονομικής παραγωγής σε μεγάλη κλίμακα ουσιών με φαρμακευτική δράση. Τα χαμηλά επίπεδα παραγωγής, έκφρασης και απομόνωσης των πρωτεϊνών, καθώς και οι διαφορές στα πρότυπα γλυκοσυλίωσης των φυτικών πρωτεϊνών σε σχέση με τις αντίστοιχες του ανθρώπου, αποτελούν υφιστάμενα τεχνολογικά προβλήματα, που πρέπει να ξεπεραστούν. Επιπροσθέτως, η κοινωνικοπολιτική αποδοχή κάθε νέας τεχνολογίας απαιτεί εγκαθίδρυση και εφαρμογή αυστηρών νομοθετικών πλαισίων ρύθμισης και ελέγχου των επιπτώσεων της τόσο στον άνθρωπο όσο και στο περιβάλλον.

## **8. Συμπεράσματα**

Είναι σαφές ότι τα λειτουργικά και φαρμακευτικά τρόφιμα και τα προϊόντα της μοριακής γεωργίας παρουσιάζουν ιδιαίτερη προοπτική σήμερα. Πλέον, η επιστήμη της διατροφής στρέφεται από την έννοια της «επαρκούς διατροφής» στις έννοιες της «βέλτιστης», «προληπτικής», και «θεραπευτικής» διατροφής, ενώ η ανάπτυξη της μοριακής γεωργίας αναμένεται να δώσει μεγάλη ώθηση στην παραγωγή νέων φαρμάκων. Αυτά τα νέα βιοτεχνολογικά προϊόντα αποκτούν διαρκώς όλο και μεγαλύτερο μερίδιο στη διεθνή αγορά και είναι σίγουρο ότι το μερίδιο τους θα αυξηθεί ακόμα περισσότερο τα επόμενα έτη. Συνεπώς, η συγκεκριμένη αγορά είναι ιδιαίτερος αυξανόμενη, καθοδηγούμενη κυρίως από τις νέες καταναλωτικές τάσεις σχετικά με την διατροφή και την υγεία. Η ζήτηση επηρεάζεται κατά κύριο λόγο από την κρατική πολιτική, το νομοθετικό πλαίσιο και από τις οργανωμένες καταναλωτικές ομάδες, ενώ η αγορά κατευθύνεται διεθνώς από την βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων. Σημαντική ώθηση στην ανάπτυξη των νέων προϊόντων θα δώσει ένας μεγάλος αριθμός αποτελεσμάτων που εξάγονται με συχνότητα πια από μακροχρόνιες έρευνες, που συνδέουν συγκεκριμένα φαρμακευτικά προϊόντα με σημαντικά οφέλη στην υγεία.



Αυτή την στιγμή όμως, τα συγκεκριμένα φαρμακευτικά προϊόντα διέπονται από αβέβαιο νομοθετικό καθεστώς, καθώς πολλά εμπίπτουν στο μεταβατικό στάδιο μεταξύ τροφίμων και φαρμάκων, ενώ η χρήση διαγονιδιακών φυτών για την παρασκευή πολλών άλλων επιβαρύνει το ήδη υπάρχον περίπλοκο νομοθετικό πλαίσιο. Επιπλέον, οι αρχές αλλά και η κοινή γνώμη παγκοσμίως παραμένουν σε μεγάλο βαθμό απληροφόρητες και συνεπώς ιδιαίτερα ευαίσθητες σε τέτοιου είδους τεχνολογίες. Επομένως, απαιτείται συντονισμένη προσπάθεια για την περαιτέρω εξοικείωση της κοινωνίας και των νομοθετικών σωμάτων με τις πολλά υποσχόμενες και ανερχόμενες τεχνολογίες παραγωγής αυτών των προϊόντων.