لاکتوکوکس نوترکیب، رویکردی جدید برای واکسن‌های خوراکی

علی شریف‌زاده[۱]، سارا آرتی[۲]*، فاطمه شایسته [۳]

۱-دانشیارمیکروبیولوژی، گروه دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲- کارشناس امور پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران.

۳- دانشجوی دکترای میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران.

.

نویسنده مسوول:*sa402002@gmail.com

چکیده:

پروبیوتیک‌های نوترکیب به طور فزاینده‌ای به عنوان حامل برای بیان و تحویل هدفمند مولکول‌های نوترکیب یا طبیعی به سطوح مخاطی در تغذیه و سلامت عمل می‌کنند. سیستم‌های تحویل با واسطه پروبیوتیک‌ها نیاز به خالص سازی مولکول‌ها در حد وسیع را رفع می‌کنند و امکان تحویل مولکول‌ها به مخاط را ممکن می‌سازند. مفهوم داروی زیستی به تجویز خوراکی میکروارگانیسم‌های نوترکیب زنده برای پیشگیری یا درمان بیمـــاری‌های مختـــلف گفته می‌شود. *لاکتوکوکوس لاکتیس* یک باکتری گرم مثبت از گروه باکتری‌های اسید لاکتیک است. *لاکتوکوکوس لاکتیس* برای قرن‌ها در تخمیر مواد غذایی به ویژه پنیر، ماست، کلم ترش و مانند آن استفاده می‌شود، بنابراین به طور کلی توسط سازمان غذا و دارو به عنوان وضعیت ایمن شناخته می‌شود. در این مقاله مروری، مقالات مروری مربوط به لاکتوکوکوس و کاربردهای گسترده آن در مورد تولید واکسن خوراکی از سال ۱۹۹۸ تا ۲۰۲۰ جمع‌آوری شد. بر این اساس، پایگاه‌های اطلاعاتی زیر را جستجو شد. پایگاه‌های اطلاعاتی Scopus، PubMed و Google Scholar. کلمات کلیدی مورد استفاده در این مطالعه شامل "ایمنی، *لاکتوکوکوس لاکتیس* و واکسن" بود. *لاکتوکوکوس لاکتیس* به‌طور کلی به عنوان ایمن (GRAS) شناخته می‌شود و می‌تواند به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده شود. لاکتوکوکوس لاکتیس نوترکیب زنده، به عنوان یک داروی زیستی، به صورت خوراکی به عنوان یک واکسن زنده که آنتی ژن‌های ویروسی و باکتریایی را بیان می‌کند، تجویز می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ایمنی، *لاکتوکوکوس لاکتیس*، واکسن

مقدمه

پروبیوتیک‌های نوترکیب به طور فزاینده‌ای به عنوان حامل برای بیان و تحویل هدفمند مولکول‌های نوترکیب یا طبیعی به سطوح مخاطی در تغذیه و سلامت عمل می‌کنند. سیستم-های تحویل با واسطه پروبیوتیک‌ها نیاز به خالص سازی مولکول‌ها در حد وسیع را رفع می‌کنند و امکان تحویل مولکول‌ها به مخاط را ممکن می‌سازند. مفهوم داروی زیستی به تجویز خوراکی میکروارگانیسم‌های نوترکیب زنده برای پیشگیری یا درمان بیمـــاری‌های مختـــلف گفته می‌شود (۱). *لاکتوکوکوس لاکتیس* یک باکتری گرم مثبت از گروه باکتری‌های اسید لاکتیک[1] است که قدمت طولانی در فرآوری و تولید محصولات لبنی دارد. ویژگی‌های منحصر بفرد این باکتری، از جمله رشد سریع، تراکم بالای سلولی، قابل استفاده بودن در صنایع تخمیری، عدم تشکیل اجسام انکلوژن[2]، نمایش سطحی[3]، عدم تولید اندوتوکسین، فقدان فعالیت پروتئازی خارج سلولی و دارا بودن کم‌ترین فعالیت پروتئازی داخل سلولی، و مهم‌تر از همه قابلیت ترشح خارج سلولی پروتیین‌ها، باعث شده تا به عنوان یک میزبان بی‌خطر و مناسب برای تولید پروتیین‌های نوترکیب یوکاریوتی، در تحقیقات و صنعت مورد استفاده قرار گیرد (۲). *لاکتوکوکوس لاکتیس* برای قرن‌ها در تخمیر مواد غذایی به ویژه پنیر، ماست، کلم ترش و مانند آن استفاده می‌شود، بنابراین به‌طور کلی توسط سازمان غذا و دارو به عنوان وضعیت ایمن شناخته می‌شود. جدا از ایجاد طعم، *لاکتوکوکوس لاکتیس* یک باکتری اسیدلاکتیک نیز اسید تولید می‌کند که غذا را حفظ می‌کند. برخی از سویه‌ها این خاصیت نگهداری را با تولید باکتریوسین افزایش می‌دهند و در نتیجه نقش آن را در صنایع غذایی تقویت می‌کنند (۳).

در طول دو دهه گذشته با ساخت باکتری‌های اسیدلاکتیک اصلاح شده از نظر ژنتیکی یعنی تولید گونه‌های نوترکیب *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس کازیی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس کلاکتیس* کارایی این میکروارگانیسم‌ها، به عنوان ناقل زنده در تولید آنتی ژن‌های مشتق از ویروس و توسعه واکسن‌های مخاطی به اثبات رسیده است. به طور کلی قابلیت پروبیوتیک‌های نوترکیب در زنده ماندن و ساکن شدن در سطوح مخاطی میزبان و توانایی آن‌ها در تنظیم ایمنی آن‌ها را به حامل‌های قابل اعتماد برای عرضه آنتی‌ژن‌های هترولوگ از طریق مسیرهای مخاطی تبدیل می‌کند. هم‌چنین این ناقل‌ها که مدیریت آسان‌تر و ایمن‌تر با تولید ارزان‌تر نسبت به واکسن‌های سنتی دارند می‌توانند برای واکسیناسیون انبوه در کشورهای حال توسعه مناسب باشند. هر چند این استراتژی امیدوار کننده است اما هنوز چالش‌های متعددی وجود دارد که باید بر آن‌ها غلبه کرد (۴).

[1] - Lactic Acid Bacteria (LAB)
[2] - Inclusion body
[3] - Surface display

علی‌رغم ارتباط مشترک *لاکتوکوکوس لاکتیس* با محصولات لبنی، این باکتری در ابتدا از گیاهانی که گمان می‌رفت در آن نهفته است جدا شد و تنها پس از مصرف توسط نشخوارکنندگان فعال و در دستگاه گوارش تکثیر شد. *لاکتوکوکوس لاکتیس* که از جنس استرپتوکوکوس سرچشمه گرفته، در سال ۱۹۸۵ در جنس لاکتوکوکوس طبقه‌بندی شد، و در زیر گروه‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه‌ی لاکتیس و لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه‌ی کرموریس[4] تقسیم‌بندی می‌شود. از نظر فنوتیپی، به عنوان یک باکتری گرم مثبت، کروی، هموفرمانتاتیو، غیر اسپورزا، و بی‌هوازی اختیاری روده با صدها گونه و متغیرهای زیستی که تا به امروز منتشر شده است طبقه بندی می‌شود (۳).

امروزه داده‌های کافی در دسترس است که نشان می‌دهد باکتری‌های اسید لاکتیک به ویژه لاکتوکوکوس‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها گزینه‌های مناسبی برای تحویل پروتئین‌های درمانی در ایجاد راه‌کارهای جدید پیشگیری و درمان هستند (۵).

واکسن‌هایی که برای پیشگیری و کنترل پاتوژن‌ها استفاده می‌شوند شامل واکسن‌های DNA، واکسن‌های زیر واحد، واکسن‌های زنده ضعیف شده و همچنین واکسن‌های ناقل (حامل) هستند. استراتژی‌های فعلی بر توسعه واکسن‌های جدید علیه بیماری‌های عفونی متمرکز شده‌اند. آن‌ها بر اساس شناسایی آنتی ژن‌های ایمنی زا هستند که قادر به برانگیختن پاسخ ایمنی لازم برای مبارزه با پاتوژن ها و سیستم انتقال آنها هستند (۷). مطالعه مروری حاضر با هدف معرفی باکتری *لاکتوکوکوس لاکتیس* غیر بیماری‌زا، غیر تهاجمی و ایمن انجام شد. علاوه بر این، مزایا و محدودیت‌های استفاده از واکسن‌های نوترکیب مبتنی بر *لاکتوکوکوس لاکتیس* بررسی شد (۶).

مواد و روش‌ها:

در این مقاله مروری، مقالات مروری مربوط به لاکتوکوکوس و کاربردهای گسترده آن در مورد تولید واکسن خوراکی از سال ۱۹۹۸ تا ۲۰۲۰ جمع‌آوری شد. بر این اساس، پایگاه‌های اطلاعاتی زیر را جستجو شد. پایگاه‌های اطلاعاتی Scopus، PubMed و Google Scholar. کلمات کلیدی مورد استفاده در این مطالعه شامل "ایمنی، *لاکتوکوکوس لاکتیس* و واکسن" بود.

نتایج

لاکتوکوکوس لاکتیس

علی‌رغم ارتباط مشترک *لاکتوکوکوس لاکتیس* با محصولات لبنی، این باکتری در ابتدا از گیاهانی که گمان می‌رفت در آن نهفته است جدا شد و تنها پس از مصرف توسط نشخوارکنندگان فعال و در دستگاه گوارش تکثیر شد. *لاکتوکوکوس لاکتیس* که از جنس استرپتوکوک سرچشمه گرفته، در سال ۱۹۸۵ به جنس لاکتوکوکوس طبقه‌بندی شد، به سه زیرگونه تقسیم‌بندی می‌شود. از نظر فنوتیپی، به عنوان

[4] - cremoris

یک باکتری گرم مثبت، کروی، هموفرمانتاتیو مولاکتات، غیر اسپورزا، و بی‌هوازی اختیاری روده با صدها گونه و متغیرهای زیستی که تا به امروز منتشر شده است طبقه بندی می‌شود (۳).

جنس لاکتوکوکوس، گرم مثبت، بی‌هوازی اختیاری غیراسپورزا و غیرمتحرک و جزء گروه باکتری‌های تولیدکننده لاکتیک اسید محسوب می‌شود. این باکتری‌ها با تخمیر قند، اسیدلاکتیک تولید می‌کنند. باکتری‌های هتروفرمانتاتیو مزوفیل (دمای بهینه رشد حدود 30درجه) و غیرکومنسال هستند که در دستگاه گوارش سیطره پیدا نمی‌کنند (کلنیزه نمی‌شوند). بنابراین خطر عوارض جانبی طی استفاده دهانی آنها را کاهش می‌دهد. دلیل ایمن بودن آنها کاربرد گستردهای در صنایع غذایی و لبنی دارند. سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا، این باکتری‌ها را به عنوان «عموماً سالم قلمداد شده (GRAS)» طبقه‌بندی کرده است. لاکتوکوکوس-لاکتیس نه تنها به دلیل اهمیت اقتصادی، بلکه به دلیل ویژگی‌های مهمی هم‌چون تعیین توالی کامل ژنوم آسان بودن دست‌کاری ژنتیکی آن تولید و گسترش بسیاری از ابزارهای ژنتیکی در حال حاضر برای آن‌ها مسیر متابولیسمی ساده و غیرپیچیده کسب انرژی با تبدیل قندها به پیروات از مسیر گلیکولیتیک و از طریق فسفریلاسیون در سطح سوبسترا به عنوان بهترین عضو اسید لاکتیک باکتری‌ها و میکروارگانیسم مدل این گروه مشخص شده است.

لاکتوکوکوس لاکتیس به طور کلی به عنوان ایمن (GRAS)شناخته می‌شود و می‌تواند به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده شود. *لاکتوکوکوس لاکتیس* نوترکیب زنده، به عنوان یک داروی زیستی، به صورت خوراکی به عنوان یک واکسن زنده که آنتی ژن‌های ویروسی و باکتریایی را بیان می‌کند، تجویز می‌شود (۶).

به غیر از عملکرد مهم آن در غذا، *لاکتوکوکوس لاکتیس* در مهندسی ژنتیک به مدل لاکتیک اسید باکتری‌ها تبدیل شده است. عوامل متعددی از جمله ژنوم کاملاً توالی‌یابی شده در اندازه کوچک (۲,۳ مگابیت بر ثانیه) و توسعه ابزارهای مهندسی ژنتیک سازگار با موفقیت مانند شبیه‌سازی و سیستم‌های بیان با گزینه‌های قابل تنظیم، آن را به یک مدل مطلوب تبدیل کرده است. در طی دو دهه گذشته، *لاکتوکوکوس لاکتیس* کاربرد خود را از مواد غذایی به یک کارخانه سلول میکروبی موفق تبدیل کرده است. و در بسیاری از موارد، به عنوان یک جایگزین گرم مثبت برای *باسیلوس سوبتی لیس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* یا همتای گرم منفی *اشریشیا کلی* عمل می‌کند (۳).

مروری بر تجارب مربوط به استفاده از لاکتوکوکوس-لاکتیس به عنوان واکسن جهت پیشگیری یا درمان برخی بیماری‌ها:

درمان عفونت‌های میکروبی نیازمند مصرف آنتی‌بیوتیک است. تحقیقات نشان داده که افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به افزایش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک می‌شود و از سوی دیگر مطالعات نشان می‌دهد که عفونت‌های ایجاد شده توسط این دسته از باکتری باعث افزایش عوارض ناشی از عفونت،

مرگ و میر و هزینه‌های درمان می‌شود. یکی از روش‌های کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از واکسن‌ها است امروزه واکسن‌های مبتنی بر میکروارگانیسم‌های نوترکیب زنده به عنوان «داروی زیستی» و به صورت تجویز خوراکی جهت پیشگیری یا درمان برخی بیماری‌ها کاربرد دارند (۶).

واکسن‌ها مقرون به صرفه‌ترین و مناسب‌ترین وسیله برای کنترل بیماری‌های عفونی هستند. توسعه واکسن اخیر به جای واکسن‌های معمولی، مانند واکسن‌های زنده یا غیرفعال متشکل از پاتوژن‌های کامل، بر واکسن‌های زیرواحد متشکل از اجزای خاص پاتوژن‌ها متمرکز است. به طور کلی تصور می‌شود که واکسن‌های زیر واحد ایمن‌تر از واکسن‌های زنده یا غیرفعال هستند، زیرا واکسن‌های ساخته شده از میکروب‌های بیماری‌زا کامل حاوی پروتئین‌های زیادی هستند که برای ایمنی محافظتی ضروری نیستند، اما اغلب خطر ایجاد پیامدهای آلرژیک یا واکنش‌پذیری خود را دارند (۷).

کنترل برخی عفونت‌های تنفسی مصرف خوراکی لاکتوکوکوس‌لاکتیس ترشح کننده پروتئین N نوکلئوکپسید کروناویروس سارس در موش منجر به تولید ایمونوگلوبین اختصاصی ضدپروتئین N در سرم می‌شود و پاسخ چشمگیری ایجاد می‌کند. همچنین مصرف لاکتوکوکوس‌لاکتیس نوترکیب بیان کننده پروتئین A حفاظتی نوموکوکی نوعی ایمنی مخاطی مقابل عفونت نوموکوکی تنفسی ایجاد شده است.

واکسیناسیون یکی از موثرترین راهبردهای بهداشت عمومی برای مبارزه با بیماری‌های عفونی است. یکی از فناوری‌هایی که برای تولید واکسن توسعه می‌یابد، استفاده از باکتری‌ها به عنوان ناقل زنده برای تحویل آنتی‌ژن‌های واکسن نوترکیب به سیستم ایمنی است. چنین واکسن‌هایی پتانسیل تولید آنتی ژن‌های محافظ را در داخل بدن دارند و ساخت آن ارزان است. علاوه بر این، امکان بیان همزمان آنتی ژن‌های متعدد در باکتری‌ها می‌تواند منجر به ایجاد واکسن‌های چند ظرفیتی شود که نیاز به کاهش تعداد تجویز دارد. بیشتر عفونت‌ها فرآیندهای عفونی را در سطوح مخاطی تحت تأثیر قرار داده و پاسخ‌های ایمنی موضعی مخاطی می‌توانند پاتوژن‌ها را در بدو ورود به بدن مسدود نمایند. واکسن‌های باکتریایی زنده می‌توانند پاسخ‌های ایمنی مخاطی و همچنین سیستمیک از راه‌های مخاطی، مانند تجویز خوراکی یا داخل بینی، القا کنند (۸).

بهبود بیماری روده ملتهب

بیماری روده ملتهب یک بیماری مزمن است که به دو شکل مختلف تحت عنوان کراون یا کولیت همراه با زخم شناخته می‌شود. تورم مخاط روده باعث به وجود آمدن این دو شکل بیماری می‌شود. در مورد تکوین این بیماری دیدگاه‌های مختلفی وجود دارد. بر اساس یک فرضیه، بروز تورم روده ناشی از به هم خوردن ترکیب میکروبی روده است که باعث ایجاد و القای پاسخ ایمنی شدید روده و التهاب مخاطی می‌شود. فرضیه دیگر به بروز پاسخ اولیه سیستم ایمنی اشاره می‌کند

که منجر به التهاب اولیه می‌شود و سپس ترکیب میکروبی روده به هم خورده و پاسخ ایمنی شدیدتر ایجاد می‌شود. استفاده از داروهای ضدالتهاب و یا استفاده از داروهای تضعیف‌کننده سیستم ایمنی از روش‌های قدیمی بهبود علائم این بیماری هستند. به هر حال اثرات جانبی و اثربخش نبودن این گونه درمان‌ها باعث شده است که نیاز به روش‌های جدید درمان احساس شود.

لاکتوکوکوس لاکتیس، کارخانه سلولی تولید پروتیین-های هترولوگ

از این باکتری به طور گسترده‌ای برای بیان پروتئین‌های هترولوگ به عنوان کاندید دارو یا واکسن‌های پیشگیری کننده استفاده می‌شود و حتی می‌توان آن را جایگزین مناسبی برای سیستم‌های بیانی پرکاربرد دیگر از جمله همتای گرم منفی آن یعنی *اشریشیا کلی* دانست (۲)

باکتری‌های اسید لاکتیک یک گروه ناهمگن از باکتری‌های گرم مثبت هستند و برخی از سویه‌ها نقش مهمی در حفظ هموستاز روده ایفا می‌کنند و اثرات مفیدی دارند. چنین سویه‌هایی به عنوان پروبیوتیک‌هایی به بازار عرضه می‌شوند که اذعان می‌شود دارای ویژگی‌های مفیدی برای مصرف‌کننده هستند. وضعیت ایمنی، فعالیت‌های پروبیوتیک و ظرفیت آن-ها برای بقا پس از عبور از دستگاه گوارش (GIT) این باکتری ها را به کاندیدای عالی برای هدف قرار دادن مولکول‌های درمانی مخاطی تبدیل می‌کند. در واقع، قدرت و ویژگی پروتئین‌های درمانی برای بیماری‌های مزمن و عفونت‌های مخاطی را می‌توان از راه مخاطی افزایش داد. مهم‌تر از همه، این رویکرد می‌تواند عوارض جانبی بالقوه مرتبط با مسیرهای سیستمیک کلاسیک را با تجویز چنین پروتئین‌هایی کاهش دهد. در طول ۲۰ سال گذشته، تعداد زیادی از مزایای سلامتی باکتری‌های اسید لاکتیک نوترکیب به ویژه لاکتوکوکس‌ها و لاکتوباسیل‌ها، به وضوح نشان داده شده است (۹).

تلاش‌های زیادی از سه دهه اخیر برای مطالعه و شناخت خصوصیات ژنتیکی باکتری‌های لاکتیک اسید به منظور دست‌یابی به محصولات صنعتی بهتر انجام شده است. امروزه لاکتوکوکوس لاکتیس به یکی از مناسب‌ترین کارخانه‌های سلولی بیان و ترشح پروتیین هترولوگ تبدیل شده است. یکی از دلایل کاربرد وسیع این باکتری، ترسح پروتیین در این باکتری و خالص‌سازی آسان پروتیین است. *لاکتوکوکوس لاکتیس* میزبان کارایی برای تولید پروتیین نوترکیبی جهت مقاصد درمانی است (۶).

بحث و نتیجه گیری

اثرات پروبیوتیک‌ها از طریق مکانیسم‌های غیرمستقیمی ایجاد می‌شود که می‌تواند ناشی از آزاد شدن متابولیت‌های تولید شده توسط پروبیوتیک‌های هضم شده ب یا از راه تأثیر بر روی سایر میکروب‌های موجود در روده میزبان و تنظیم تولید متابولیت‌ها توسط آن‌ها باشد. بهترین تأثیر پروبیوتیک‌ها در تجویز با واکسن آنفلوانزا گزارش شده است که این اثر به واسطه تنظیم آنتی‌بادی، تنظیم پاسخ ایمنی سلولی یا تی سل‌ها به دنبال تجویز واکسن آنفلوانزا توسط پروبیوتیک‌ها

بوده است. . مطالعاتی به بررسی نقش پروبیوتیک‌ها بر فعالیت سلول‌های طبیعی کشنده علاوه بر پاسخ‌های آنتی‌بادی به دنبال تجویز واکسن پرداخته‌اند. این مطالعات به نقش این سلول‌ها در ایمنی ناشی از واکسن تاکید داشته‌اند (۶). ناقل-های مبتنی بر لاکتوکوکی نوترکیب می‌توانند جایگزین‌های مطلوبی برای واکسن‌های سویه ضعیف شده باشند. علاوه بر این، می‌توان آن‌ها را در مقایسه با سایر سیستم‌های تولیدی، به عنوان میزبانی مناسب و ایمن برای تولید محصولات انسانی در نظر گرفت. همچنین پتانسیل بالایی برای تزریق واکسن دارد، به ویژه از طریق روش‌های مخاطی برای پیشگیری یا درمان برخی بیماری‌ها. علاوه بر این، لاکتوکوکوس لاکتیس یکی از مناسب‌ترین گیاهان سلولی برای بیان و ترشح پروتئین‌های هترولوگ است. یکی از دلایل استفاده گسترده از این باکتری، ترشح سریع پروتئین در این باکتری و خالص-سازی امکان‌پذیر پروتیین است. علاوه بر این، *لاکتوکوکوس لاکتیس* یک میزبان کارآمد برای تولید پروتئین‌های نوترکیب برای اهداف درمانی است (۶).

واکسن‌های زنده ممکن است پاتوژن‌های ضعیف‌شده یا واکسن‌های ناقل زنده باشند که در آن‌ها از یک ناقل (پاتوژن ضعیف شده یا ارگانیسم مشترک) برای تحویل یک آنتی‌ژن خارجی استفاده می‌شود که به طور مؤثر نوعی واکسن زیر واحد است. واکسن‌های زنده دارای مزایای کلیدی هستند زیرا مسیر ورود پاتوژن‌ها را تقلید می‌کنند و پاسخ ایمنی مخصوص به محل عفونت طبیعی را تحریک می‌کنند. واکسن‌های زنده را می‌توان از طریق راه‌های مخاطی تجویز کرد که می‌تواند نسبت به راه‌های تزریق تزریقی کم‌تر تهاجمی باشد. با تکثیر، حتی به میزان محدود، اغلب درون سلولی در سلول‌های اپی-تلیال یا سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن (APC)، مسیرهای پاسخ ذاتی موضعی ایجاد می‌شوند که منجر به ترشح کموکاین‌ها و سایتوکین‌هایی شده که سلول‌های عرضه کننده‌ی آنتی ژن، نوتروفیل‌ها و در نهایت سلول‌های T را برای ایجاد ایمنی تطبیقی جذب می‌کنند. القای پاسخ ایمنی مخاطی در یک سطح مخاطی می‌تواند منجر به مهاجرت سلول‌های ایمنی به سایر نقاط مخاطی دورتر شود(۱۱).

لاکتوکوک‌ها به چند دلیل اصلی می‌توانند مصونیت مخاطی (ترشح IgA ترشحی) و ایمنی سیستمیک را القا کنند، در برابر شرایط اسیدی معده مقاومت کنند، به اپی‌تلیوم روده متصل شوند و پاسخ ایمنی را به عنوان یک ادجوانت تقویت کنند. علاوه بر این، پاسخ ایمنی ضعیف در برابر آن‌ها، تحمل ایمنی کم‌تر به آنها، همچنین عوارض جانبی کم‌تر، آن را به گزینه مناسبی از ناقلان زنده در ایمونوتراپی و ایمونوپروفیلاکسی تبدیل می‌کند. با این ویژگی‌ها، ناقل‌های مبتنی بر لاکتیک اسید باکتری‌ها جایگزین مناسبی برای واکسن‌ها برای سویه‌های ضعیف شده میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، لیپوزوم‌ها و میکرو ذرات هستند.

تجویز مخاطی و بدون سوزن واکسن‌ها می‌تواند نیاز به سرنگ را با هزینه اضافی ذاتی و خطر انتقال بیماری کاهش دهد و باعث افزایش انطباق و در نتیجه پوشش برنامه‌های

واکسیناسیون شود. . اولین ناقل‌های باکتریایی زنده از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مانند شیگلا، سالمونلا، لیستریا و مایکوباکتریوم مشتق شده‌اند. در این موارد، جهش‌یافته ضعیف شده پایدار که دیگر بیماری‌زا نیستند، اما ایمنی‌زا باقی می‌مانند، ابتدا باید انتخاب یا ساخته شوند، مرحله‌ای که در بسیاری از موارد خسته‌کننده و زمان‌بر است. بعلاوه، سویه‌های بیماری‌زای ضعیف‌شده که سطح حدت باقی‌مانده را حفظ می‌کنند، بعید است برای واکسیناسیون افراد دارای قابلیت ایمنی جزئی، مانند نوزادان، افراد مسن یا بیماران دچار نقص ایمنی مناسب باشند (۸).

لاکتوکوک نوترکیب به عنوان میزبان ایمن برای تولید محصول مورد نظر، غذا یا سایر مصارف انسانی نسبت به سایر سیستم‌های تولید ایمن‌تر است. با این حال، استفاده از چنین میکروارگانیسم‌های اصلاح شده ژنتیکی مستلزم مطالعات بالینی و کنترل شده گسترده و ارزیابی مناسب عملکرد و ایمنی این گونه داروها به ویژه برای انسان است (۶).

یک راه حل ابتکاری، استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک است که به اصطلاح وضعیت GRAS دارند، به این معنی که آن‌ها غیر بیماری‌زا هستند و کاربرد آن‌ها برای انسان و حیوانات بی‌خطر است. عدم وجود لیپوپلی‌ساکاریدها در دیواره سلولی آن‌ها یک مزیت بزرگ است که خطر شوک اندوتوکسیک را از بین می‌برد. علاوه بر این، صنایع غذایی تجربه طولانی و موفقی در تولید در مقیاس بزرگ و ذخیره سازی ایمن این باکتری‌ها دارد که می‌تواند آماده‌سازی و نگه داری واکسن بالقوه را ساده کند (۱۱).

منابع

1- Rahimi Y., Rabbanikhorasgani M., Zarkeshesfahani H., Emamzadeh R., Keyvaniamineh H. and Rezaei M. 2018. Cloning of Immunogenic Domain of Clostridium Difficile Toxin B in *Lactococcus lactis* to Develop an Oral Vaccine Based on Lactococcus against *Clostridium difficile* Associated Colitis. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences. 27 (4): 25-34.

2- Meilina L., Budiarti S., Mustopa A.Z., Darusman A. and Bilhaq M. 2021. Heterologous Expression of Interferon α-2b in Lactococcus lactis and its Biological Activity against Colorectal Cancer Cells. Microbiology and Biotechnology Letters. 49 (1): 75-87.

۲- الهه داورپناه و طاهره طاهری. «لاکتوکوکوس لاکتیس: یک سیستم بیانی مناسب برای تولید پروتئین‌های هترولوگ». تهران، انستیتو پاستور ایران، بخش ایمونوتراپی و تحقیقات واکسن لیشمانیا.

3- Song A.A.l., Lionel L.A., Swee H.E.L. and Raha A.R. 2017. A review on *Lactococcus lactis*: from food to factory. Microbial Cell Factories. 16(55): 1-15.

4. Nabizadeh SF., Dehqan F. and Khashei Varnamkhasti KH. 2022. Recombinant probiotic-Based Vaccines; Attractive vehicles for immunization via mucosal routes. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 30 (4): 4702-4705.

5. Zarkesh Esfahani S.H., Shaykh Baygloo N., Emami Karvani Z., Sedighy Khoydaki S., Jenab A. and Naghoni A. 2012. Novel Drug and Vaccine Delivery Systems. Journal of Isfahan Medical School. 30 (196): 982-990.

6. Margolles A., Moreno JA., Ruiz L., Marelli B., Magni C. and de Los Reyes-Gavilán CG. 2010. Production of human growth hormone by *Lactococcus lactis*. Journal of Bioscience and Bioengineering. 109(4):322-324.

-7. Takahashi K., Orito N., Tokunoh N. and Inoue N. 2019. Current issues regarding the application of recombinant lactic acid bacteria to mucosal vaccine carriers. Applied Microbiology and Biotechnology. 103:5947–5955

8. Tarahomjoo S. 2012. Development of Vaccine Delivery Vehicles Based on Lactic Acid Bacteria. Molecular Biotechnology. 51(2):183-99.

9. Bermúdez-Humarán LG., Aubry C., Motta JP., Deraison C., Steidler L.. and Langella P. 2013. Engineering lactococci and lactobacilli for human health. Current Opinion in Microbiology 16(3):278-283.

10. Safdari M., Razi A., Safarirad M., Pournaghi S.J., Shekari S. and Rameshrad M. 2020. An Overview of Probiotics for Prevention and

Treatment. Journal of North Khorasan. University of Medical Sciences. 49 (13): 1-13.

11. Manohar M.M., Campbell B.E., Walduck .K. and Moore R.J. 2022. Enhancement of live vaccines by co-delivery of immune modulating proteins. Vaccine. 40(40):5769-5780.

12. Szatraj K., Szczepankowska A.K. and Chmielewska-Jeznach M. 2017. Lactic acid bacteria promising vaccine vectors: possibilities, limitations, doubts. Journal of Applied Microbiology. 123(2): 325-339.

Recombinant lactococcus, a new approach for oral vaccine

Ali Sharifzadeh[1], Sara Arti[2*], Fatemeh Shayesteh[3]

1-Faculty of Veterinary of medicine, Islamic Azad university, Sharekord Branch, Sharekor, Iran

2-Research Affairs Expert, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Ph.D Student,Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran [1*]

***Corresponding Author: sa402002@gmail.com**

ABSTRACT

Recombinant probiotics are increasingly acting as carriers for the expression and targeted delivery of recombinant or natural molecules to mucosal surfaces in nutrition and health. Probiotics-mediated delivery systems eliminate the need to purify molecules to a large extent and make it possible to deliver molecules to the mucosa. The concept of biological medicine is the oral administration of living recombinant microorganisms for the prevention or treatment of various diseases. *Lactococcus lactis* is a gram-positive bacterium from the group of lactic acid bacteria. *Lactococcus lactis* has been used for centuries in food fermentation, especially cheese, yogurt, sauerkraut and the like. Therefore, it is generally recognized as a safe situation by the Food and Drug Organization. In this review article, review articles related to lactococcus and its wide application in oral vaccine production from 1998 to 2020 were collected. Accordingly, the following databases were searched. Scopus, PubMed and Google Scholar databases. The keywords used in this study included "immunity, *Lactococcus lactis* and vaccine". Lactococcus lactis is generally recognized as safe and can be widely used in the food industry. Live recombinant *Lactococcus lactis*, as a biological drug, is administered orally as a live vaccine that expresses viral and bacterial antigens.

Key Words: Immunity, *Lactococcus Lactis*, Vaccine