

همایش محصولات تراریخته در خدمت تولید غذای سالم، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان - ۴ آذر ۱۳۹۵

جایگاه حیوانات تراریخته در تولید پروتئین‌های نو ترکیب داروئی

بیژن محمودی^{۱*}، رضا شکری قره لو^۲، محمود نظری^۱

۱. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز، ایران

۲. گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳. سازمان جهاد کشاورزی استان اردبیل، مدیریت هماهنگی ترویج

Email: Bizhan.mahmoudi@gmail.com

چکیده

در حال حاضر، پروتئین‌ها به عنوان عوامل داروئی بطور گسترده‌ای برای درمان انواع مختلفی از بیماری‌ها استفاده می‌شوند. تولید پروتئین‌های داروئی نیازمند سیستم‌های بیانی کارآمد است که ضمن سازگاری با معیارهای مورد نیاز برای تجاری‌سازی و تولید انبوه این پروتئین‌ها، قادر باشد پروتئین‌های مناسب و فعال در سیستم‌های بیولوژیکی نیز تولید کند. حیوانات تراریخته برای این منظور چشم‌انداز نوید بخشی را ایجاد کرده‌اند ولی استفاده از حیوانات تراریخته به عنوان سیستم بیانی کارآمد نیازمند توسعه بیشتر در تکنیک‌ها در این بخش است. علاوه بر امکان تولید پروتئین‌های داروئی در حیوانات تراریخته، پتانسیل تولید مواد غذایی با ارزش غذایی بیشتر مثلاً شیر و گوشت نیز برای حیوانات تراریخته وجود دارد که به نوبت خود در سلامتی انسان‌ها بسیار موثرند. از طرف دیگر ملاحظاتی در رابطه با استفاده از حیوانات تراریخته مطرح است. بدیهی است که برای استفاده از ظرفیت‌های حیوانات تراریخته بایستی در چارچوب قانون ملی ایمنی زیستی اقدامات لازم انجام شود تا امکان استفاده بهینه از حیوانات تراریخته را ایجاد نمایند.

کلمات کلیدی: سیستم بیانی، پروتئین نو ترکیب، دارو

۱. مقدمه

نقش و اهمیت پروتئین‌ها در سلول کاملاً واضح است. پروتئین‌ها در طیف گسترده‌ای و تقریباً در تمامی فرایندهای سلولی اعم از تشکیل ساختار سلول تا کاتالیز و افزایش سرعت واکنش‌های شیمیایی دخیل هستند و نقش‌های کلیدی را ایفاء می‌کنند (۱). هر گونه نقصان در عملکرد هر یک از پروتئین‌ها می‌تواند عواقب پاتولوژیکی برای سلول به همراه داشته باشد و منجر به بیماری فرد گردد. از زمان شکل‌گیری علوم پزشکی، تلاش‌های فراوانی برای یافتن و تولید داروهای موثر برای درمان بیماری‌ها به کار بسته شده است. در دهه‌های اخیر، با ظهور و پیشرفت تکنولوژی DNA نو ترکیب چشم اندازه‌ها و راه‌های گسترده‌ای برای تولید داروهای نو ترکیب با استفاده از علم بیوتکنولوژی پیش روی محققین قرار گرفته است (۲). پروتئین نو ترکیب به پروتئین‌های بیان شده توسط قطعات DNA نو ترکیب همسانه‌سازی شده در یک سیستم بیانی گفته می‌شود. تولید پروتئین‌های نو ترکیب می‌تواند با اهداف مختلفی همچون استفاده از آنها در صنعت، پزشکی، کشاورزی و غیره باشد. تولید پروتئین‌های داروئی برای درمان بیماری‌های مختلف و مهم مثل هپاتیت، سرطان و دیابت تحول بزرگی را در علوم پزشکی نوین ایجاد کرد (۳، ۴). بخاطر مزایای که پروتئین‌های نو ترکیب داروئی نسبت به داروهای شیمیایی دارند، تقاضاهای جهانی برای پروتئین‌های نو ترکیب دارویی بالاست بطوریکه خرید و فروش این نوع از داروها سالانه بیش از ۹۰ میلیون دلار بوده است و طبق پیش‌بینی‌ها این مقدار در سال ۲۰۱۵ به حدود ۱۵۰ میلیون دلار

همایش محصولات تراریخته در خدمت تولید غذای سالم، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان - ۴ آذر ۱۳۹۵

رسیده است (۳) وجود سیستم‌های بیانی مناسب برای تولید پروتئین‌های نو ترکیب و نیز تولید آنها در مقیاس بالا ضروری است. تاکنون سیستم‌های بیانی مختلفی هم چون سیستم‌های باکتریایی، قارچ‌ها، سلول‌های حشرات، سلول‌های حیوانی، گیاهان تراریخته و حیوانات تراریخته برای تولید پروتئین‌های نو ترکیب مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۵). هر کدام از این سیستم‌ها مزایا و معایب خاص خود را دارند. سیستم‌های باکتریایی با وجود مزایای زیاد و راحتی کار با آنها، به خاطر عدم توانایی آنها در انجام تغییرات پس از ترجمه در پروتئین‌های تولید شده، استفاده از آنها را برای این منظور محدود می‌کند. سلول‌های یوکاریوتی و قارچ‌ها قادر هستند که تغییرات پس از ترجمه را در پروتئین‌های تولید شده انجام دهند ولی خیلی زود مشخص شد که سلول‌های یوکاریوتیک قارچی نمی‌توانند بطور صحیحی باعث فولدینگ پروتئین‌ها شوند و نیز قابلیت ترشحی بسیار پائینی داشتند که این امر خالص‌سازی و جمع‌آوری پروتئین‌های تولید شده را با مشکل جدی مواجه می‌ساخت. این مشکلات برای سلول‌های یوکاریوتیک حشرات نیز تا حدود زیادی صادق بود (۶). تمامی محدودیت‌های ذکر شده باعث شد تا محققین به دنبال سیستم‌های بیانی جدید باشند که از میان آنها استفاده از حیوانات تراریخته به خاطر یکسان بودن شرایط مولکولی و فیژیولوژیکی با انسان توجهات زیادی را به خود جلب کرد و موجبات رشد و توسعه این فناوری را رقم زد. در این مقاله، ما به برخی از مزایا و معایب، مسائل اخلاقی استفاده از حیوانات تراریخته و نیز پروتئین‌های دارویی تولید شده با استفاده از این سیستم را بطور خیلی مختصر مورد بحث و اشاره قرار خواهیم داد.

۲. مزایا و معایب استفاده از حیوانات تراریخته برای تولید پروتئین‌های نو ترکیب دارویی

حیوانات تراریخته به خاطر یوکاریوتیک بودن می‌توانند فولدینگ پروتئین‌ها را بطور صحیحی انجام دهند و نیز تغییرات پس ترجمه مورد نیاز برای عملکرد صحیح پروتئین نو ترکیب تولید شده را اجرا کنند. بسیاری از پروتئین‌های نو ترکیب دارویی مورد نیاز یوکاریوتی هستند و نیاز دارند که تغییرات پس از ترجمه در آنها صورت بگیرد. یکی از مهمترین ویژگی‌های مثبت حیوانات تراریخته، وجود انتخاب‌های گسترده و انواع مختلفی از سیستم‌های بیانی در حیوانات است مثل امکان بیان پروتئین مورد نظر در شیر و یا گوشت (۷، ۸). سایر سیستم‌های بیانی مهم در حیوانات شامل بیان پروتئین نو ترکیب در سفیده تخم مرغ، پلاسمای سمینال و غده‌های پشم است (۹، ۱۱). هزینه پایین تولید در حیوانات تراریخته از یک سوء کیفیت و میزان محصولات نو ترکیب تولید شده از سوی دیگر حیوانات تراریخته را بیشتر مورد توجه قرار می‌دهند. ولی با این وجود برخی معایب به ویژه امکان آلودگی محصولات تولید شده با پاتوژن‌های انسانی و مشکل بودن جداسازی پروتئین‌های تولید شده از هم‌تاهای مشابه خود در سلول‌های حیوانی از مشکلات استفاده از این سیستم هستند. شکل یک به طور خلاصه برخی ویژگی‌های استفاده از حیوانات تراریخته برای تولید پروتئین‌های نو ترکیب دارویی با سایر سیستم‌های مرسوم را نشان می‌دهد.

همایش محصولات تراریخته در خدمت تولید غذای سالم، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان - ۴ آذر ۱۳۹۵



شکل ۱. مقایسه ویژگی‌های استفاده از حیوانات تراریخته نسبت به سایر سیستم‌های تولید پروتئین‌های نو ترکیب. نمودارهای سبز: خیلی خوب، نمودارهای زرد: خوب، نمودارهای قرمز: متوسط.

۳. پروتئین‌های دارویی تولید شده با استفاده از حیوانات تراریخته

سال ۱۹۸۰ میلادی بود که اولین پروتئین نو ترکیب (انسولین) در باکتری تولید و برای درمان دیابت مورد استفاده قرار گرفت. به دنبال آن هورمون رشد انسانی نیز خیلی زود تولید شد. امروزه، انسولین تولید شده بدین وسیله و شاخص‌ترین دست‌آورد صنعت بیوتکنولوژی برای درمان هزاران بیمار دیابتی در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. همانطوریکه در جدول یک نشان داده شده است، بیشتر پروتئین‌های نو ترکیب تولید شده برای درمان بیماری در انسان استفاده می‌شود ولی بعضی از پروتئین‌های نو ترکیب تولید شده با هدف کاربرد آنها در حیوانات بوده است. انتروویروس (Enterovirus EV71) عامل بیماری دست-پا-دهان (-hand-food-and-mouth disease) در چهارپایان است که باعث ایجاد صدمات نورولوژیکی می‌شود و پتانسیل بالایی برای آلودگی فراگیر حیوانات دارد. بخاطر مشکل بودن درمان این بیماری یافتن واکسنی موثر برای مقابله با این بیماری می‌تواند بسیار کارآمد باشد. در راستای این هدف، چن و همکارانش (۱۲) سیستم بیانی حیوانی را توسعه دادند که در آن از پروموتور آلفا لاکتالبومین (alpha-lactalbumin promoter) و توالی‌های رهبر آلفاکازئین (alpha-casein leader sequence) استفاده کردند. با استفاده از این سیستم واکسن EV71 در شیر موش تراریخته تولید شد. طبق گزارش مولفین، مقدار ۲.۵۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از این پروتئین نو ترکیب تولید شده و بررسی اثرات آن نشان داده است که مصرف شیرهای محتوی این پروتئین نو ترکیب توسط دام‌های بیمار باعث شده که حیوانات آلوده نسبت به حیوانات سالم شرایط بهتری داشته باشند و از وزن معمول و آنتی‌بادی‌های اختصاصی بالاتری برخوردار باشند.

همایش محصولات تراریخته در خدمت تولید غذای سالم، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان - ۴ آذر ۱۳۹۵

جدول ۱. برخی پروتئین‌های نو ترکیب دارویی تولید شده با استفاده از حیوانات تراریخته.

منبع	محل تولید	میزبان	پروتئین نو ترکیب تولید شده
(۱۳)	شیر	موش	Human alpha-1 antitrypsin
(۱۴)	شیر	گوسفند	Human alpha-1 antitrypsin
(۱۵)	غده شیری	موش	Human PS2
(۱۶)	شیر	موش	Human GH
(۱۷)	شیر	موش	Human alpha-1 antitrypsin-Arg 358
(۱۸)	شیر	گاو	Human growth hormone
(۱۹)	شیر	موش	VPN
(۲۰)	شیر	بز	Lactoferrin
(۲۱)	شیر	بز	Erythropoietin
(۲۲)	غده شیری	موش	FcRn

یکی از جنبه‌های بسیار مورد توجه در مورد حیوانات تراریخته که در ارتباط مستقیم با سلامتی انسان است، تغییر ژنتیکی حیوانات برای تولید شیرهای با ترکیب متفاوت و ارزش غذایی بالاتر است. شیرهای نو ترکیب تغییر یافته می‌توانند حاوی پروتئین‌های نو ترکیب دارویی مثلاً واکسن و یا ترکیبات مغذی باشند (۱۳). به علاوه، تکنولوژی DNA نو ترکیب این امکان را به وجود آورده است که پروتئین‌های نوینی با کارکردهای مختلف نیز تولید شوند. برخی از پروتئین‌های نو ترکیب تولید شده در شیر مثل هورمون IGF-I و فاکتور رشدی EGF تأثیرات مثبتی را در نمو سیستم گوارشی، سیستم ایمنی قوی‌تر و اعضاء ترشحی در نوزادان تغذیه شده با شیرهای محتوی آنها نشان داده‌اند (۱۴). تولید آنتی بادی‌های مونوکلونال در شیر از دیگر پتانسیل و ظرفیت‌های مهم حیوانات تراریخته است (۱۵). از سایر پروتئین‌های نو ترکیب مهم تولید شده در حیوانات تراریخته می‌توان به تولید لیزوزیم در غده‌های شیری و یا پپتیدهای ضد باکتریایی اشاره نمود (۱۶).

بزها از جمله حیواناتی هستند که پروتئین‌های دارویی نو ترکیب همچون آنتی بادی‌های مونوکلونال، فعال کننده‌های پلاسمینوژن و آنتی ترومبین ۳ در آنها تولید شده‌اند (). همچنین گزارشاتی از تولید مواد دارویی پروتئینی همچون واکسن‌ها، اینترفرون‌ها، سایتوکینین‌ها و سرم آلبومین انسانی در جوجه و تخم مرغ (۱۷)، خوک‌ها (۱۹، ۲۰)، گاو (۱۷)، موش (۱۷)، خرگوش (۱۷) و گوسفندها (۱۷ و ۱۹) وجود دارد. با تاییدیه USDA برای داروی ATryn (rATIII) تولید شده در حیوان تراریخته، مسیر برای گرفتن تاییدیه برای سایر داروهای نو ترکیب تولید شده هموارتر شده است (۲۱). همچنین بازدارنده CI تولید شده در شیر خرگوش، مرحله سه از آزمایشات تاییدیه را پشت سر گذاشته است و انتظار می‌رود که بتواند جهت تجویز به بیماران تایید صلاحیت شود (۲۱). از سایر داروهای پروتئینی نو ترکیب که در حال گذراندن مراحل مختلف آزمایشی برای گرفتن تاییدیه از سازمان مربوطه هستند می‌توان به آنتی بادی بر علیه استرپتوکوکوس، واکسن برای درمان آلزایمر، آلفا گلوکوزیداز و آلفا آنتی تریپسین اشاره کرد (۲۲).

علاوه بر تولید آنتی بادی‌های مونوکلونال حیوانات تراریخته در زمینه تولید سلول‌های خونی نیز مورد استفاده قرار گرفته‌اند و همچنان تحت مطالعه می‌باشند. هموگلوبین تولید شده در خوک‌های تراریخته برخی از ویژگی‌های هموگلوبین‌های انسانی را دارند و

همایش محصولات تراریخته در خدمت تولید غذای سالم، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان - ۴ آذر ۱۳۹۵

قادر هستند به اکسیژن متصل شوند (۲۱). در زمینه مطالعات مربوط به حل مشکلات موجود در پیوند اعضاء در انسان نیز حیوانات تراریخته به ویژه موش و خوک استفاده شده‌اند. یکی از مشکلات اساسی در سر راه پیوند اعضاء، رد پیوند به خاطر واکنش سیستم ایمنی گیرنده پیوند است که با عنوان سازگاری نسجی (Major histocompatibility) شناخته می‌شود. مطالعات روی خوک برای رد پیوند مشخص کرد که رد پیوند فوق حاد را می‌توان با استفاده از خاموش کردن ژن آلفا-گال اپی توپ تا حد زیادی مهار کرد (۱۹، ۲۲ و ۲۳).

۴. استفاده از حیوانات تراریخته در مطالعات پزشکی

پیشرفت‌های اساسی صورت گرفته در روش‌های ایجاد و انتقال مواد ژنتیکی، ایجاد جهش‌های هدفمند و ابداع روش‌های سریع و دقیق توالی‌یابی ژنوم تولید حیوانات تراریخته را بسیار تسهیل کرده است و حیوانات مدل (Model Animals) تغییر ژن یافته را بطور غیر قابل انکاری جزء جدایی‌ناپذیر مطالعات سلولی و مولکولی پزشکی کرده است (۵). حیوانات مدل ایجاد شده در فهمیدن سازوکارهای بیماری‌های انسانی و نیز آزمایش داروهای تولید شده بطور قابل ملاحظه‌ای به کمک محققین آمده‌اند (۲۴). برای درک بهتر اهمیت و نقش حیوانات تراریخته در مطالعات پزشکی در ادامه به برخی از مدل‌های حیوانی مهم پرداخته می‌شود.

موش مدل Tg26 HIVAN اولین حیوان تراریخته ایجاد شده برای مطالعه بیماری نقص ایمنی اکتسابی انسان (HIV) در سال ۱۹۹۱ بود. از آن زمان تا کنون مدل‌های حیوانی مختلفی طراحی و تولید شده‌اند (۲۵). موش‌های Tg26 HIVA به گونه‌ای تهیه شده‌اند که قادر هستند پروتئین‌های HIV-1 را بیان بکنند و علائم بیماری مشابهی با آنچه در افراد مبتلا به ایدز دیده می‌شود را نشان دهند (۲۶). وجود این مدل‌های این امکان را به محققین می‌دهند تا بتوانند روش‌های درمانی و داروهای کشف شده را پیش استفاده در انسان در این مدل‌ها امتحان کنند. از دیگر بیماری‌های مهم در انسان آلزایمر است که با ظهور تکنولوژی حیوانات تراریخته پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای در درک مکانیزم‌ها و راه حل‌های درمانی صورت گرفته است. موش‌های مدل PDAPP, Tg2576, TAU, ALZ7, 7TauTg, ApoE از جمله مدل‌های تولید شده برای مطالعه آلزایمر هستند (۲۷ و ۲۸). برای سایر بیماری‌های همچون بیماری‌های قلبی-عروقی (۲۹)، دیابت (۳۰ و ۳۱) و رگ‌زایی (۳۲) نیز مدل‌های حیوانی برای مطالعه ایجاد شده‌اند. یکی از مهمترین بیماری‌های گریبان‌گیر در انسان سرطان است که سالانه تعداد زیادی از انسان‌ها به خاطر ابتلاء به این بیماری پیچیده می‌میرند. آنکوموس (Oncomouse) اولین حیوان تراریخته‌ای است که برای مطالعه سرطان ایجاد شد. ژن‌های ایجاد کننده سرطان در مراحل اولیه رشد جنینی وارد این حیوانات می‌شوند (۲۴). موش‌های آنکوموس که برخی از ژن‌های آنها ناک اوت (Knockout) شده است در مطالعه سازوکارهای توسعه و رشد سرطان و نیز انتشار سرطان (Metastasis) کمک‌های شایانی کرده‌اند و در واقع پایه و اساس این مطالعات را تشکیل می‌دهند (۳۳).

از سایر گونه‌های حیوانات علاوه بر موش که در مطالعات پزشکی و زیست‌شناسی سلولی و مولکولی مورد استفاده قرار گرفته‌اند می‌توان به قورباغه، نماتدها و مهره داران دریایی اشاره کرد که بیشتر برای مطالعه عناصر پروموتوری ژن‌ها و نیز انتقال ژن استفاده شده‌اند (۱۷). در حال حاضر بیشتر شرکت‌های داروسازی بطور گسترده‌ای در حال استفاده از حیوانات مدل برای شناسایی هدف‌های مولکولی داروهایشان و نیز بررسی عوارض احتمالی آن هستند. این امر بطور چشم‌گیری باعث کاهش هزینه‌های مربوط به تولید و تست داروها شده است (۳۴). کاهش هزینه‌های مربوط به تولید محصولات دارویی می‌تواند از جهت در دسترس قرار گرفتن دارو برای مصرف کننده و نیز صرفه اقتصادی آن برای تولید انبوه بسیار حیاتی باشد. حتی اگر دارویی تولید شود که برای درمان

همایش محصولات تراریخته در خدمت تولید غذای سالم، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان - ۴ آذر ۱۳۹۵

بیماری خاصی موثر باشد ولی هزینه‌ای تولید آن بالا باشد و یا صرفه اقتصادی نداشته باشد، مسلم است که امکان استفاده از آن محصول برای همه مقدور نخواهد بود. لذا یافتن روش‌های آزمایشگاهی ارزان قیمت حائز اهمیت است.

۵. نتیجه گیری

بطور خلاصه می‌توان گفت که ظرفیت حیوانات تراریخته در تولید پروتئین‌های نو ترکیب دارویی بالاست ولی به هر حال این سیستم معایب خاص خود را دارند. بیان پروتئین‌های نو ترکیب دارویی در حیوانات تراریخته مستلزم آن است تا پیشرفت‌هایی از لحاظ تکنیکی و اتخاذ تدابیری برای ملاحظات اخلاقی در استفاده از این تکنولوژی صورت بگیرد. خوشبختانه در حال حاضر پیشرفت‌های صورت گرفته در علوم مختلف مربوطه مثل روش‌های موثر انتقال ژن، ویرایش ژنوم با دقت و اطمینان بالا و نیز فراهم آمدن دستگاه‌های آزمایشگاهی دقیق آینده بسیار روشن‌تری را برای این تکنولوژی رقم زده‌اند. از طرفی دیگر تکنولوژی حیوانات تراریخته با به وجود آوردن حیوانات مدل برای بیماری‌های مختلف امکان مطالعه سازوکارهای مولکولی و تست انواع مختلف روش‌های درمانی و داروهای کشف شده را به وجود آورده است و وجود حیوانات تراریخته را به جزء جدایی‌ناپذیر مطالعات مولکولی پزشکی تبدیل کرده است. با توجه به پیشرفت‌های سریع در این زمینه و کسب تاییدیه برخی از داروهای نو ترکیب تولید شده، نوید آن می‌رود که این تکنولوژی در آینده نقش‌های مهمتری را در زمینه‌های پزشکی، دارویی و بطور کلی در زمینه سلامت انسان ایفاء کند. لذا مطالعه و تحقیقات در زمینه‌های حیوانات تراریخته برای همگام شدن با رشد روز افزون این تکنولوژی در جهان ضروری است.

۶. مراجع

۱. Lehninger, A., D. Nelson, and M. Cox, Principles of Biochemistry. CBS publisher and distributors. 2010, Delhi.
۲. Crommelin, D.J., R.D. Sindelar, and B. Meibohm, Pharmaceutical biotechnology: fundamentals and applications. 2013: Springer Science & Business Media.
۳. Xu, J., X. Ge, and M.C. Dolan, Towards high-yield production of pharmaceutical proteins with plant cell suspension cultures. Biotechnology advances, 2011. 29(3): p. 278-299.
۴. Gharelo, R.S., et al., Production of therapeutic proteins through plant tissue and cell culture. Journal of BioScience and Biotechnology. 1(5): p. 93-104.
۵. Houdebine, L.-M., Production of pharmaceutical proteins by transgenic animals. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases, 2009. 32(2): p. 107-121.
۶. Dimitrov, D.S., Therapeutic proteins. Therapeutic Proteins: Methods and Protocols, 2012: p. 1-26.
۷. Houdebine, L.M., Transgenic animal bioreactors. Transgenic research, 2000. 9(4-5): p. 305-320.
۸. Houdebine, L.-M., Antibody manufacture in transgenic animals and comparisons with other systems. Current opinion in biotechnology, 2002. 13(6): p. 625-629.
۹. Zhu, L., et al., Production of human monoclonal antibody in eggs of chimeric chickens. Nature biotechnology, 2005. 23(9): p. 1159-1169.
۱۰. Lilloco, S., et al., Oviduct-specific expression of two therapeutic proteins in transgenic hens. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007. 104(6): p. 1771-1776.
۱۱. Markaki, M., et al., Stable expression of human growth hormone over 50 generations in transgenic insect larvae. Transgenic research, 2007. 16(1): p. 99-107.
۱۲. Chen, H.-L., et al., Expression of VP1 protein in the milk of transgenic mice: a potential oral vaccine protects against enterovirus 71 infection. Vaccine, 2008. 26(23): p. 2882-2889.

همایش محصولات تراریخته در خدمت تولید غذای سالم، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان - ۴ آذر ۱۳۹۵

۱۳. Archibald, A.L., et al., High-level expression of biologically active human alpha 1-antitrypsin in the milk of transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1990. 87(13): p. 5178-5182.
۱۴. Wright, G., et al., High level expression of active human alpha-1-antitrypsin in the milk of transgenic sheep. *Bio/technology (Nature Publishing Company)*, 1991. 9(9): p. 830-834.
۱۵. Tomasetto, C., et al., Breast cancer protein PS2 synthesis in mammary gland of transgenic mice and secretion into milk. *Molecular Endocrinology*, 1989. 3(10): p. 1579-1584.
۱۶. Devinoy, E., et al., High level production of human growth hormone in the milk of transgenic mice: the upstream region of the rabbit whey acidic protein (WAP) gene targets transgene expression to the mammary gland. *Transgenic research*, 1994. 3(2): p. 79-89.
۱۷. Bischoff, R., et al., A 17.6 kbp region located upstream of the rabbit WAP gene directs high level expression of a functional human protein variant in transgenic mouse milk. *FEBS letters*, 1992. 305(3): p. 265-268.
۱۸. Salamone, D., et al., High level expression of bioactive recombinant human growth hormone in the milk of a cloned transgenic cow. *Journal of biotechnology*, 2006. 124(2): p. 469-472.
۱۹. Zhang, J., et al., Expression of active recombinant human lactoferrin in the milk of transgenic goats. *Protein expression and purification*, 2008. 57(2): p. 127-135.
۲۰. Toledo, J.R., et al., High expression level of recombinant human erythropoietin in the milk of non-transgenic goats. *Journal of biotechnology*, 2006. 123(2): p. 225-235.
۲۱. Lu, W., et al., Over-expression of the bovine FcRn in the mammary gland results in increased IgG levels in both milk and serum of transgenic mice. *Immunology*, 2007. 122(3): p. 401-408.
۲۲. Bremel, R.D., H.-C. Yom, and G.T. Bleck, Alteration of milk composition using molecular genetics. *Journal of dairy science*, 1989. 72(10): p. 2826-2833.
۲۳. Grosvenor, C.E., M.F. Picciano, and C.R. Baumrucker, Hormones and growth factors in milk. *Endocrine Reviews*, 1993. 14(6): p. 710-728.
۲۴. Storb, U., Transgenic mice with immunoglobulin genes. *Annual review of immunology*, 1987. 5(1): p. 151-174.
۲۵. Maga, E., et al., Production and processing of milk from transgenic goats expressing human lysozyme in the mammary gland. *Journal of dairy science*, 2006. 89(2): p. 518-524.
۲۶. Montgomery, S.A., *Transgenic Animals*. BioProcess International, 2004.
۲۷. Ormandy, E.H., J. Dale, and G. Griffin, Genetic engineering of animals: ethical issues, including welfare concerns. *The Canadian Veterinary Journal*, 2011. 52(5): p. 544.
۲۸. Hunter, C.V., L.S. Tiley, and H.M. Sang, Developments in transgenic technology: applications for medicine. *Trends in molecular medicine*, 2005. 11(6): p. 293-298.
۲۹. Prather, R.S., M. Shen, and Y. Dai, Genetically modified pigs for medicine and agriculture. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 2008. 25(1): p. 245-266.
۳۰. Niemann, H., W. Kues, and J. Carnwath, Transgenic farm animals: present and future. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 2005. 24(1): p. 285-298.
۳۱. Niemann, H. and W.A. Kues, Application of transgenesis in livestock for agriculture and biomedicine. *Animal reproduction science*, 2003. 79(3): p. 291-317.
۳۲. Cooper, D.K., Clinical xenotransplantation—how close are we? *The Lancet*, 2003. 362(9383): p. 557-559.
۳۳. Gosavi, T.P., Patentability of Animal Models: India and the Globe. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive*, 2011. 2(4).
۳۴. Rosenstiel, P., et al., Transgenic and infectious animal models of HIV-associated nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2009. 20(11): p. 2296-2304.