آنزیم L–آسپاراژیناز: از تولید تا درمان

● سمیه پورمحمد قاسم آباد سفلی
گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه بابلسر، مازندران، ایران

● جاوید تقی نژاد
گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
jataghinejad@gmail.com

● زهرا نیکبخت
گروه میکروبیولوژی، واحد علوم پزشکی، دانشکده علوم نوین، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

اکثر L-آسپاراژینازهای میکروبی ماهیت درون سلولی دارند به جز تعداد کمی که ترشح خارج سلولی دارند. در چشم انداز صنعتی، ترشح خارج سلولی آنزیم L-آسپاراژیناز مفیدتر می‌باشد زیرا در شرایط ترشح درون سلولی در محیط کشت به وفور تولید می‌شود که علاوه بر این، شرایط تصفیه آسان‌تر و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است. آسپاراژینازها به طور گسترده در طبیعت از باکتری‌ها تا پستانداران توزیع می‌شوند و نقش مرکزی در متابولیسم و استفاده از اسیدهای آمینه ایفا می‌کنند. تا کنون دو نوع آنزیم L-آسپاراژیناز در پروکاریوت ها یافت شده که نوع I آن در سیتوپلاسم بیان شده و واکنش هیدرولیز برای دو اسید آمینه L- گلوتامین و L-آسپاراژین را صورت می‌دهد. همچنین نوع II آسپاراژیناز پروکاریوتی، تحت شرایط بی‌هوازی و در فضای بین غشایی باکتری‌های قابلیت بیان شدن را دارد که اختصاصیت زیادی در اتصال به اسید آمینه L-آسپاراژین را داشته و در مهار کردن تومورها نیز می‌توانند ایفای نقش نمایند. هدف از مطالعه حاضر بررسی مروری تولید و درمان آنزیم L-آسپاراژیناز در مصارف پزشکی می‌باشد.

کلید واژه‌ها: آنزیم L-آسپاراژیناز، میکروارگانیسم‌های مولد L- آسپاراژیناز، ضد سرطان

مقدمه

آنزیم L-آسپاراژین آمیدوهیدرولاز و یا به بیان دیگر، آسپاراژیناز که دارای شماره E.C33.11 و در رده آنزیم‌های هیدرولازی دسته بندی می‌شود مسئول انجام فرآیند هیدرولیز اسید آمینه L-آسپاراژین و تبدیل آن به اسید آسپارتیک به همراه آمونیاک است. پیش ماده و محصول فرآیند این واکنش آنزیمی، برای همه موجودات زنده حائز اهمیت است. به همین خاطر، این آنزیم وظایف فیزیولوژیکی زیادی را ایفا می‌کند. لذا میزان فعالیت و کنترل بیان ژن تولید کننده آنزیم آسپاراژیناز، سبب تعادل میان مقدار اسیدهای آمینه بدن می‌شود (۱).

آسپاراژینازها به طور گسترده در طبیعت از باکتری‌ها تا پستانداران توزیع می‌شوند و نقش مرکزی در متابولیسم و استفاده از اسیدهای آمینه ایفا می‌کنند. در بدن انسان L-آسپارتات نقش مهمی را به عنوان پیش ساز اورنتین در چرخه اوره و در واکنش‌های ترانس آمیناسیون و تشکیل اگزالواستات در مسیر گلوکونئوژنیک که منجر به تشکیل

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-08]

گلوکز می‌شود، ایفا می‌کند (۲).

تاکنون دو نوع آنزیم L-آسپاراژیناز در پروکاریوت ها یافت شده که نوع I آن در سیتوپلاسم بیان شده و واکنش هیدرولیز برای دو اسید آمینه L- گلوتامین و L-آسپاراژین را صورت می‌دهد. همچنین نوع II آسپاراژیناز پروکاریوتی، تحت شرایط بی هوازی و در فضای بین غشایی باکتری‌ها قابلیت بیان شدن را دارد که اختصاصیت زیادی در اتصال به اسید آمینه L-آسپاراژین را داشته و در مهار کردن تومورها نیز می‌توانند ایفای نقش نمایند (۳).

کیدی و همکاران در تحقیقات خود به خاصیت ضد توموری نمونه سرم خوکچه هندی پی بردند و در ادامه این مطالعه، بروومی در سال ۱۹۶۱ نشان داد که منشاء خاصیت ضد توموری، آنزیم L- آسپاراژیناز است. ویرستون و ماشبرون در طی مطالعه خود متوجه شدند که خواص ضد توموری آنزیم آسپاراژیناز تخلیص شده مشابه همان سرم خوکچه هندی اثر گذار است و این تاییدی بر یافته‌های گذشته بود. بنابراین، آنزیم L-آسپاراژیناز، از اهمیت بالایی در زمینه‌های پزشکی مولکولی و زیست فناوری برخوردار است. از این رو، سازمان بهداشت جهانی و سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (FDA) مجوز استفاده از این آنزیم را جهت درمان بیماری‌هایی نظیر لنفوسارکوما و لوسمی حاد لنفوبلاستیک که جزء بیماری‌های سرطانی بدخیم در کودکان و نوجوانان به حساب می‌آیند به تصویب رساندند (۴).

آنزیم آسپاراژیناز به طور گسترده در باکتری‌هایی از جمله باسیلوس سوبتیلیس، اشریشیا کلی، ویبریو سوکینوژنز، کورینه باکتریوم گلوتامیکوم، سراشیا مارسنسیس، اوینیاکریساتمی و در قارچهایی نظیر آسپرژیلوس ترئوس و کاندیدا بوتیلیس گزارش شده‌اند. از نظر تجاری اشریشیا کلی، سراشیا مارسنسیس و اوینیا کریساتمی به دلیل تولید آنزیم L –آسپاراژیناز بیشترین توجه را به خود جلب کرده‌اند(۵). هدف از مطالعه حاضر بررسی مروری تولید و درمان آنزیم L-آسپاراژیناز در مصارف پزشکی می‌باشد.

آنزیم L-آسپاراژیناز

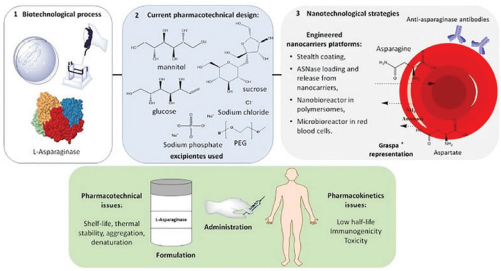
آنزیم L-آسپاراژیناز (EC 3.5.1.1) یک آمیدوهیدرولاز است که می‌تواند هر دو آسپاراژین و گلوتامین را هیدرولیز کند (۶). این آنزیم با مکانیسم اثر ضد توموری خود با تداخل در مسیرهای سیگنالینگ و بیان فاکتورهای رونویسی انکوژنیک را مهار می‌کند (۷). ASNase به عنوان یک داروی زیستی و از مهم‌ترین داروهای کلیدی انکولوژیک در درمان لوسمی لنفوبلاستیک حاد و لنفوسارکوم (شکل ۱) محسوب می‌شود (۸). لوسمی لنفوبلاستیک حاد یکی شایع‌ترین نوع سرطان دوران کودکی می‌باشد که از هر ۱۰ مورد ۴ مورد در بزرگسالان رخ می‌دهد (۹). طبق برآوردهای سالمون و همکاران در سال ۲۰۲۰ به میزان ۵۳۰۰۰ مورد از بیماری ALL در سراسر جهان گزارش می‌شود (۱۰، ۱۱). پیشرفت‌های درمانی بیشتری ممکن است در نتیجه کاربرد L–آسپاراژیناز برای کاهش تهاجم سرطان، گردش سلول‌های تومور و متاستاز مورد انتظار باشد، همانطور که در مطالعه اخیر برای مدل موشی سرطان پستان توسط کنووت و همکاران گزارش شده بود (۱۲).

این محققان نشان دادند که آمینو اسید آسپاراژین تا حدودی از طریق تنظیم یک فرآیند سلولی مهم در متاستاتیک به نام اپیتلیال به مزانشیم (EMT) متاستاز را کنترل می‌کند که منجر به بیان خواص مزانشیمی شده و متاستاز را تسهیل می‌کند. علاوه بر این، مطالعه دیگری نشان داد که وقتی سطح گلوتامین خارج سلولی کاهش می‌یابد، سلول‌های تومور برای تکثیر و سنتز پروتئین به آسپاراژین وابسته می‌شوند (۱۳).

مطالعه لئو و همکارانش در سال ۲۰۱۸ به این نتیجه رسیدند که آنزیم‌های آسپاراژین و گلوتامین برای مهار متاستاز عملکرد خوبی را دارد و اظهار داشت که داروی ASNase در آینده می‌تواند به عنوان داروی زیستی جهت مهار متاستاز و درمان سرطان ALL ارائه داد (۱۴). در حال حاضر داروی ASNase (آنزیم آسپاراژیناز) از اشریشیا کلی بومی مشتق شده است و شکل آنزیم PEG ylated (پلی اتیلن گلیکول) از باکتری اوینیا کریساتمی مشتق می‌شود (۱۵). اشریشیا کلی دو نوع (EcA II و EcA I) ASNase تولید می‌کند که ویژگی‌های متمایزی را دارند. EcA I یک آنزیم سازنده است که در سیتوپلاسم یافت می‌شود در حالی که EcA II در پری پلاسم باکتری قرار دارد و میل ترکیبی

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-08]

بالاتری به L-آسپاراژین دارد (۱۶).



شکل ۱- استفاده از L-آسپاراژیناز به عنوان داروی زیستی (۱۰)

❑ تولید L-آسپاراژیناز از منابع مختلف

این آنزیم به طور گسترده در بین گیاهان، حیوانات و میکروارگانیسم‌ها توزیع می‌شود. طیفی وسیعی از میکروارگانیسم‌ها که شامل باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌های رشته‌ای می‌باشد به عنوان منبع ایده آل برای این آنزیم قوی در نظر گرفته می‌شود. آنزیم L-آسپاراژیناز تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها بر منابع گیاهی و حیوانی به علت صرفه‌های اقتصادی و اصلاح فرآیند ترجیح داده می‌شوند. آنزیم‌های جدا شده از میکروارگانیسم‌ها نسبتاً بیشتر و پایدارتر از منابع جدا شده از حیوانات و گیاهان است (۱۷). علاوه بر موارد گفته شده اصلاح ژنتیکی میکروارگانیسم‌ها برای افزایش بازده تولید کاری آسان می‌باشد (۱۸).

❑ منابع باکتریایی

آنزیم L- آسپاراژیناز توسط چندین گونه باکتریایی تولید می‌شود (جدول ۱) اما آنزیم‌های نوع II از اشریشیا کلی و اوینیا کریساتمی در مقیاس صنعتی و برای کاربرد بالینی تولید می‌شوند. آنزیم‌های نوع I و نوع II مکانیسم اثر و سمیت یکسانی را دارند اما خواص فارماکوکینتیک آن‌ها متفاوت بوده و بیمارانی که به هر یک از آنزیم‌ها آلرژی پیدا کنند نوع دیگری را تجویز می‌کنند (۱۹). آنزیم جدا شده از اشریشیا کلی میل ترکیبی بالایی ($Km=18\pm3\mu M$) نسبت به آنزیم جدا شده از اوینیا کریساتمی ($Km = 33 \pm 6\ \mu M$) در سوبسترای L- آسپاراژیناز را دارد (۲۰).

اکثر L-آسپاراژینازهای میکروبی ماهیت درون سلولی دارند به جز تعداد کمی که ترشح خارج سلولی دارند. در چشم انداز صنعتی، ترشح خارج سلولی آنزیم L-آسپاراژیناز مفیدتر می‌باشد زیرا در شرایط ترشح درون سلولی در محیط کشت به وفور تولید می‌شود که علاوه بر این، شرایط تصفیه آسان‌تر و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است (۲۱). باکتری‌های گرم مثبت فضای پری پلاسمیک ندارند و به همین دلیل چندین آنزیم را به اطراف ترشح می‌کنند. برعکس باکتری‌های گرم منفی فضای پری پلاسمیک را دارند و آنزیم‌ها از درون ترشح می‌شوند. در غربالگری باکتری‌های گرم مثبت و منفی محققان به این نتیجه رسیدند که باکتری‌های گرم مثبت با ترشحات خارج سلولی بسیار حائز اهمیت و سودمند هستند (۲۲).

جدول ۱- باکتری‌های مولد آنزیم L-آسپاراژیناز و خواص شیمیایی آن‌ها

باکتری‌ها	خصوصیات بیوشیمیایی			
	pH بهینه	دمای بهینه	مقدار تولید L-آسپاراژیناز	وزن مولکولی
سودوموناس آئروژینوزا	۹	۳۷	$۰/۱۴۷ \times ۱۰^{-۳}$	۱۶۰
پروتئوس ولگاریس	۷-۸	۵۷	$۲/۶\times۱۰^{-۵}$	-
ویبریو ساکسینوژنز	۷/۳	-	$۴/۷۸\times۱۰^{-۵}$	۱۴۶
باسیلوس کواگولانس	۸/۵ – ۹/۵	۵۵	$۴/۷\times۱۰^{-۳}$	۸۵
مایکوباکتریو فلی	۸/۸ – ۹/۲	-	$۰/۷\times۱۰^{-۳}$	۱۲۶
اروینیا کاروتوار	۸	۵۰	$۱/۸\times۱۰^{-۵}$	۱۲۵-۱۴۵
اروینیا اویداز	۷/۵	-	۳×۱۰^{-۳}	۱۵۵
اشریشیا کلی	۷-۸	۳۷	$۱/۲۵\times۱۰^{-۵}$	۱۴۱
ازتوباکتر وینلاندی	۸/۶	۴۸	$۱/۱\times۱۰^{-۳}$	۸۴
سودوموناس فلورسنس	۸-۹	-	$۴/۳۱\times۱۰^{-۳}$	۷۰

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-08]

منابع قارچی

همانطور که قبلاً گفته شد از این آنزیم جهت تجاری‌سازی از منابع باکتریایی برای درمان سرطان ALL و لنفوم غیر هوچکین (NHL) استفاده می‌شود. بنابراین آنزیم تولید شده از منابع باکتریایی برای برخی از واکنش‌های ایمونولوژیکی مانند حساسیت مفرط، اختلالات انعقادی، اختلالات پانکراتیکی، آنافیلاکسی، اختلال عملکرد کبدی، ترومبوز، افزایش قند خون و اختلال عملکرد مغزی قابل استفاده می‌باشد (۲۳). برای به حداقل رساندن چنین مشکلات ایمونولوژیک، منبع جایگزین آنزیم‌های استخراج شده از قارچ‌ها می‌باشد. قارچ‌ها از نظر تکاملی به انسان‌ها (در مقایسه با باکتری‌ها) نزدیک‌تر هستند برخی پژوهش‌ها نشان داده که آنزیم‌های استخراجی قارچ‌ها ایمنی زایی کمتری را ایجاد می‌کنند (۲۴). از منابع قارچی می‌توان به جدول ۲ اشاره کرد.

جدول ۲- قارچ‌های مولد آنزیم L-آسپاراژیناز و خواص شیمیایی آن‌ها

قارچ‌ها	خصوصیات بیوشیمیایی			
	pH بهینه	دمای بهینه	مقدار تولید L-آسپاراژیناز	وزن مولکولی
ساکارومایسز سروزیه	۶/۸	-	$۳/۵\times۱۰^{-۴}$	۸۰۰
پیسیا پولی مورفا	۶/۷	-	$۱/۳۷\times۱۰^{-۳}$	-
ریزوموکور میهی	۷	۴۵	-	۱۳۳/۷
پنسلیوم دیجیتاتوم	۷	۳۰	۱×۱۰^{-۵}	-
کاندیدا بوتیلیس	-	-	$۷/۷\times۱۰^{-۵}$	۴۸۰
گونه‌های پنی سیلیوم	۷	۳۷	۴×۱۰^{-۳}	۶۶
آسپرژیلوس آسیوتاتوس	۹	۳۰	$۱۲/۵\times۱۰^{-۳}$	-
فوزاریوم تریسینکتوم	۷/۵ – ۸/۷	-	$۵/۲\times۱۰^{-۴}$	۱۶۱-۱۷۰
آسپرژیلوس ترئوس	۵-۷	۴۰-۴۵	$۵/۸\times۱۰^{-۴}$	-
گونه‌های کلادوسپوریوم	۶/۳	۳۰	۱×۱۰^{-۱}	۱۲۱

منابع گیاهی

منابع گیاهی از نظر تولید L-آسپاراژیناز کمتر مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در گیاهان، آسپاراژین یکی از ترکیبات اصلی ذخیره و انتقال نیتروژن می‌باشد. آنزیم L-آسپاراژیناز در طی فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند جوانه زنی بذر، خشکسالی، کمبود مواد معدنی و حمله پاتوژن تجمع می‌یابد. L-آسپاراژیناز آمونیاک را از آسپاراژین ذخیره شده برای رشد و توسعه گیاه آزاد می‌کند (۲۵).

استراتژی‌های تولید L-آسپاراژیناز

تخمیر، تکنیکی برتر برای تولید آنزیم‌های مختلف می‌باشد. هر دو نوع ارگانیسم باکتریایی و قارچی برای تولید یک سری آنزیم‌ها در هنگام تخمیر روی بسترهای مناسب مورد استفاده قرار می‌گیرند. تولید L-آسپاراژیناز به دو روش تخمیری از جمله تخمیر غوطه ور (SmF[1])، تخمیر حالت جامد (SSF[2]) و فناوری DNA نوترکیب در میکروارگانیسم‌ها که به روش مهندسی انجام می‌شود (۲۶).

1- Submerged Fermentation
2- Solid State Fermentation

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-08]

تخمیر غوطه ور (SmF)

این روش تخمیر به طور کلی برای تولید آنزیم باکتریایی استفاده می‌گردد. تولید آنزیم L-آسپاراژیناز عمدتاً توسط تخمیر غوطه ور در سراسر جهان انجام می‌شود. استفاده از روش SmF به دلیل بازدهی و کیفیت بالا تثبیت شده است. کاربرد SmF به نسبت SSF بدون نیاز به پیش بستر تصفیه، کنترل آسان پارامترهای فرآیند مثل گرما، pH و بقیه موارد پشتیبانی می‌گردد. ارگانیسم‌های اصلاح شده ژنتیکی به میزان بیشتری نسبت به روش SSF خالص سازی محصولات را آسان‌تر می‌کند (۲۷). برخی کاستی‌ها در روش SmF باعث شده که محققان به طرف روش SSF حرکت کنند. در حال حاضر برای تولید L-آسپاراژیناز از روش SmF و با استفاده از سویه‌های اصلاح ژنتیکی شده استفاده و روانه بازار می‌شود (۲۸).

فناوری DNA نوترکیب (RDT)

فناوری DNA نوترکیب RDT[3] می‌تواند برای دستیابی به تولید هدفمند این آنزیم با بیشترین میزان استفاده شود. دو ایزوفرم از این آنزیم گزارش شده است که به عنوان نوع I و نوع II نام گذاری شده‌اند. نوع I در سیتوپلاسم و نوع II در پری پلاسم تولید می‌شود. در باکتری اشریشیا کلی کد ژن AnsA برای تولید ایزوفرم نوع I که میل ترکیبی کمی با آسپاراژین داشته و در حالی که AnsB کد ژنی برای ایزوفرم نوع II که میل ترکیبی بیشتری برای آسپاراژین دارد که ایزوفرم نوع II در درمان لوسمی لنفوبلاستیک حاد استفاده می‌شود (۲۹). در یک مطالعه از پروتوپلاست دو قارچ تریکودرما و کلادوسپوریوم جهت تولید آنزیم آسپاراژیناز استفاده گردید. در سویه‌های نوترکیب میزان تولید آنزیم ۲/۵۸ برابر بیشتر از سویه‌های والدی می‌باشد (۳۰). دانش و آگاهی از ژن کد کننده L- آسپاراژیناز و تکنیک‌های مهندسی نوترکیب باعث تولید بالاتر این آنزیم و کاهش ایمنی زایی کمتر و همچنین از نظر اقتصادی مقرون به صرفه می‌باشد. دو سویه باسیلوس سوبتلیس و باسیلوس سرئوس از طریق همجوشی پروتوپلاست تولید بالای آنزیم می‌کنند. در سویه‌های نوترکیب نسبت به سویه‌های معمولی ۲/۵ برابر بیشتر تولید آنزیم می‌کنند (۳۱).

مطالعات نشان می‌دهد که در قارچ ساکارومایسس سروزیه ژن ASP-1 برای تولید آنزیم L-آسپاراژیناز نوع I را کد می‌کنند (ScASNase1). در یک مطالعه که اخیراً منتشر شده در آن از باکتری اشریشیا کلی به عنوان سویه نوترکیب برای تولید ژن ScASNase1 استفاده شده است که خاصیت هر دو ایزوفرم نوع I و II ضد توموری را دارد (۳۲).

تخمیر حالت جامد (SSF)

در سال‌های اخیر برای تولید آنزیم‌ها، محققان تولید کنندگان را به استفاده از روش SSF[4] تشویق می‌کنند. که در آن محصول خام تخمیر شده می‌تواند مستقیماً به عنوان منبع آنزیم استفاده می‌شود. در بیشتر مطالعات مشخص شده که در تولید آنزیم L-آسپاراژیناز به روش SSF به نسبت روش SmF بیشتر می‌باشد. شرایط کشت در روش SSF نسبتاً طبیعی بوده و میکروب‌های تولید کننده آنزیم در بالاترین حد خود آنزیم تولید می‌کنند همچنین در این روش از ضایعات کشاورزی هم برای تولید آنزیم L-آسپاراژیناز استفاده می‌شود این ضایعات عبارتند از: سبوس گندم، سبوس برنج، پوست پرتقال، ضایعات چای، ضایعات پوست بادام زمینی می‌باشند. استفاده از ضایعات کشاورزی در تولید آنزیم مقرون به صرفه بوده و همچنین آلودگی محیط زیست را کاهش می‌دهد (۳۳). مزیت دیگر این روش تولید آنزیم از پساب‌های کشاورزی می‌باشد که باعث حذف آلاینده‌های زیستی می‌شود (۳۴).

بهبود تولید L-آسپاراژیناز

در بهینه سازی پارامترهای فرآیند تولید می‌تواند منجر به بازده بالاتر تولید شده و در تجاری سازی محصول موفقیت

3- Recombinant DNA Technology
4- Solid State Fermentation

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-08]

خوبی کسب شـود. در روش‌های سنتی یا کلاسیک از یک عامل در یک زمان استفاده می‌کنند که باعث می‌شود فرآیند گران و زمان بر گردد. از سوی دیگر بهبود سویه (نوترکیب) و توسـعه فرآیند برای تولید آنزیم با عیار بالا روشی سریع بـرای بهبود تولید آنزیم می‌باشـد. محققان از تکنیک‌های مدرن برای بهینه سازی به تولید بالاتر آنزیم L-آسپاراژیناز نیاز دارنـد. روش‌هایی مانند طراحی فاکتوریل به غربالگری آنزیـم کمک می‌کنـد و انتخاب پارامترهـای مهم تخمیر مؤثر جهت تولید آنزیم مورد نیاز می‌باشـد. از روش آماری Plackett–Burman معمولاً برای بررسی تأثیر گذارترین پارامتر از یک مجموعه بزرگ اسـتفاده می‌شود. مزیت این روش این طور است که بیشترین پیش بینی را برای پارامترها انجـام می‌دهد. از محدودیت ایـن روش عدم وجود تعامل تعیین کننده بین پارامترهای مختلف فرآیند می‌باشد (۳۵). برای تولید اقتصادی آنزیـم در مقیاس صنعتی، می‌توان از تکنیک‌هایی مانند بی حرکتی سلول استفاده کرد. این روش چندین مزایا از جمله سهولت جداسازی توده سلولی از مایع حجیم به دلیل قابلیت اسـتفاده مجدد آن، تسهیل عملیات مـداوم برای مدت زمان طولانی‌تـر آن و راندمان کاتالیزور بالاتر را دارد (۳۶).

❑ آنزیم L- آسپاراژیناز: پلیمرها و نانوذرات به عنوان عوامل دارورسانی

در چنـد دهه گذشـته، نانـو ذرات (انـدازه ۱۰۰۰ - ۱ نانومتر) به عنوان عوامل دارورسـانی برای درمان سرطان، بیمـاری ایدز، بیماری‌های عفونـی و چندین بیماری دیگر به کار گرفته شـده‌اند. همراه با کاهش ایمنی زایی داروها، نانوذرات نیز حلالیت و نیمه عمر آن‌ها را بهبود می‌بخشـد و شـاخص درمانی آن‌ها را افزایش می‌دهد. سیسـتم‌های تحویـل نانـوذرات زیادی وجـود دارند کـه تاکنون برای تحویل داروهای مختلف مورد اسـتفاده قرار گرفته‌اند. آن‌ها پلیمری، لیپوزومی، مغناطیسی، طلا، نقره، نقاط کوانتومی، نانو لوله‌های کربنی و دندریمرها هسـتند. در سال ۱۹۹۴، PEG - L –آسـپاراژیناز (Oncospar) اولیـن داروی پلیمری بود که موافقت سازمان غذا و داروی آمریکا را برای درمان لوسمی لنفوسیتی حاد دریافت کرد (۳۷).

پلیمرهـای دیگر مـورد اسـتفاده برای فرمولاسـیون نانوذرات پر شـده با L-آسـپاراژیناز، کپسول‌های نانو پلی (لاکتیک‌اسـید - کو - گلیکولید) و پلی (۳ - هیدروکسـی بوتیرات - کو - ۳ - هیدروکسی والرات) (PHPV) هستند. دانشمندان پودر ابریشـم فیبروئین را با نانوذرات کونژوگه شـده با این آنزیم که مقاومت تریپسین بهتری را علاوه بر پایداری بهتر در سـرم ارائه می‌دهـد، فرموله کردند (۳۸). سیسـتم‌های دیگـری که مورد اسـتفاده قـرار می‌گیرند نانوذرات مغناطیسی هستند چون به عنوان عامل کنتراست MRI اسـتفاده می‌شوند. همچنین آنزیم با به دام انداختن آن در نانو ذرات مغناطیسی هیدروژل با یک لایه متوالی از کیتوزان و به دنبال آن اسـید هیالورونیک، تثبیت می‌شود (۳۹).

اخیـراً تثبیت این آنزیم در نانو ذرات مغناطیسـی انجام شده اسـت. علاوه بر این، توسـط یک پلیمر واکنش پذیر زیسـت سـازگار، پلـی (۲ - وینیـل - ۴، ۴ - دی متیل آزلاکتون) عامل دار می‌شـود. این شرکت حتی پس از ۱۰ بـار اسـتفاده، ۹۵/۷ درصد از فعالیت خـود را حفظ کرده اسـت. همچنین بیش از ۷۲/۶ درصد فعالیت را پس از ۱۰ هفته ذخیره سـازی حفظ می‌کند (۴۰). محققان همچنین یـک نانو کامپوزیت حاوی آسـپاراژیناز، نانـو ذرات کربن، متوترکسـات (Mtx) همراه با فلوئورسـین ایزوتیوسیانات (FITC) را توسعه داده است. ویژگی تصویر برداری FITC[5] به نظارت بر مسـیرهای دارویی کمک می‌کند در حالی که Mtx (آنالوگ اسـید فولیک) به دارو رسانی هدفمند کمک می‌کند (۴۱). یکی از مسـائل مهم مرتبـط با این آنزیم با اهمیت پزشـکی، منشأ غیر انسانی آن اسـت که منجر به تشکیل آنتی بادی بر علیه آن می‌شود. به منظور غلبه بر این مشکل، آن را در یک نانو ذره توخالی با منافذ دوگانه احاطه کردیم که تنها به L - آسپاراژین اجازه حرکت به درون آن

5- Fluorescein Isothiocyanate

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-08]

را می‌دهد. در داخل حفره، واکنش رخ می‌دهد در حالی که آنتی بادی و پروتئاز خارج از نانوذره توخالی باقی می‌مانند. این امر از تخریب آنزیم تثبیت شـــده توسط سیستم ایمنی بدن جلوگیری می‌کند (۴۲).

❑ فعالیت‌های ضد میکروبی

صنایع در جســـتجوی مداوم منبع جدید L- آسپاراژیناز با بازده بالاتـــر و ویژگی‌های جدید هســـتند. دلیل آن این است که کاربرد گســـترده آن تقاضای بالای بازار را افزایش می‌دهد که مقابله با نرخ تولید فعلی را به چالش می‌کشـــد. گزارش شده اســـت که منابع این آنزیم نیز دارای خاصیت ضد میکروبی هســـتند. این ویژگـــی می‌تواند برای فرآوری زیستی L-آسپاراژیناز به منظور جلوگیری از آلودگی مورد بهـــره برداری قرار گیرد. آنزیم تولید شـــده از این منابع نیز برخی از این ویژگی را در برابر پاتوژن ها دارد. منابع دریایی متنوع‌تر هســـتند و برای تولید این آنزیم کم‌تر مورد بررسی قرار می‌گیرند. انتظار می‌رود میکروارگانیسم‌های این منبع به دلیل تحمل شـــرایط محیطی متنـــوع مانند دما، pH و شـــوری، خاصیت منحصر به فردی داشـــته باشند. گزارش نشـــان می‌دهد که گونه‌های استرپتومایســـس جدا شـــده دریایـــی از خلیج بنـــگال دارای فعالیت آنزیمی ۲۵/۹۰ IU همـــراه با خاصیت ضد میکروبی هســـتند (۴۳). در مطالعه دیگر عصاره برگ گیاه گل میخک و فعالیت L-آسپاراژیناز را نشـــان می‌دهد کـــه دارای اثرات ضـــد باکتریایی و ضد قارچی علیه پاتوژن هایی مانند اســـتافیلوکوکوس اورئوس، اســـتافیلوکوکوس اپیدرمیدیـــس، میکروکوکوس لوتئوس، باسیلوس ســـرئوس، باسیلوس ســـوبتلیس، اشریشیا کلی، ســـودوموناس آئروژینوزا، کلبســـیلا پنومونیه، آسپرژیلوس نایجر و یک ضد عفونی کننده می‌باشد (۴۴).

❑ درمان سرطان

حضور L-آســـپاراژیناز برای اولین بار توسط کلمنتی در ســـال ۱۹۲۲ در ســـرم خوکچه هندی تشـــخیص داده شد (۴۵). عـــلاوه بر این، فعالیت ضد لنفوم آن توســـط بروم در ســـال ۱۹۶۱ در ســـلول‌های لنفوم 6C3HED کشف شد (۴۶). پس از آن، مشـــبورن و وریســـتون در سال ۱۹۶۳ به صورت تجربی آن آســـپاراژیناز را تعیین کردند (۴۷). کشف خواص ضد ســـرطانی این آنزیم به رشد سریع تولید آنزیم کمک کرده اســـت. بیش از ۴۰ ســـال است که این دارو در شـــیمی درمانی انواع خاصی از بدخیمی‌های لنفوبلاستیک، عمدتاً در کلیه و لنفوســـارکوما مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴۸). ســـازمان‌های FDA و WHO،L - آســـپاراژیناز را تأیید کرده‌اند کـــه می‌تواند به طور مؤثر در درمان ALL و سارکوم لنفی مورد استفاده قرار گیرد (۴۹). همچنین از آن برای درمان لوسمی میلوبلاستیک حاد، لوسمی لنفوستیک مزمن، بیماری هاجکین، ملانوسارکوم، لنفوم غیر هاجکین، کارسینوم لوزالمعده و لنفوسارکومای گاوی استفاده می‌شود (۵۰). در حال حاضر، بزرگ‌ترین شرکت‌های داروسازی در ایالات متحده، انگلســـتان، جمهوری فدرال آلمان و ژاپن در حال تولید فرم بسیار خالص آنزیم هستند (۵۱).

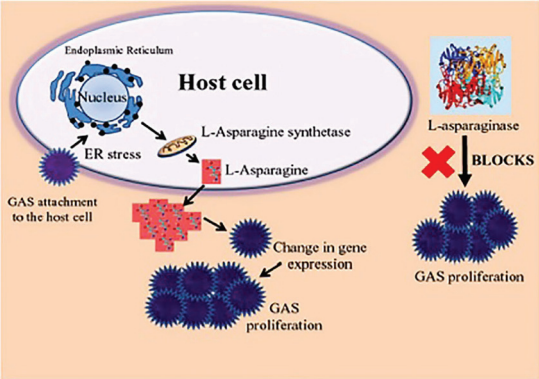
❑ بیماری عفونی

یک مطالعه اخیر نشـــان می‌دهد که L-آسپاراژیناز رشد استرپتوکوکوس های گروه A را در خون انسان و همچنین در یک مدل مـــوش از عفونت باکتریایـــی را مهار می‌کند. اســـترپتوکوکوس پیوژنز یا GAS[6] بـــه علت ایجاد برخی از عفونت‌های مزمن شناخته شـــده است. وقتی که GAS به سلول میزبان می‌چسبد، سموم استرپتولیزین (استرپتولیزین O و استرپتولیزین S) ترشح می‌کند که باعث انهدام شبکه آندوپلاســـمی می‌شـــوند. این امر منجر به افزایش بیان ژن و تولید آســـپاراژین ســـنتتاز که به نوبه خـــود، باعث تولید سطح بالای L-آسپاراژین در خون می‌شود. در سطح بالای L-آسپاراژین، بیان ژن GAS افزایش می‌یابد و تکثیر GAS را تحریـــک می‌کند که منجر به یک اثر کشـــنده در میزبان

6- Group A Streptococcus

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-08]

می‌شود. مکانیسم آلودگی GAS و آزاد شدن L-آسپاراژین در شکل ۲ نشان داده شـــده است. L-آسپاراژین آزاد شده (به دلیل عفونت GAS) می‌تواند توسط L-آسپاراژیناز برای بررســـی تکثیر پاتوژن در داخل میزبـــان کاهش یابد. این یافته همچنین توجه خود را به ســـمت تغییرات متابولیکی که در طـــول تهاجم بیماری زا رخ می‌دهند جلب می‌کند و می‌تواند برای درمان مؤثـــر بیماری‌های عفونی مورد هدف قرار گیرد. محققان همچنیـــن این فرض را مطرح می‌کنند که دیگـــر باکتری‌های گرم مثبت مانند اســـتافیلوکوکوس اورئوس، لیســـتریا مونوسیتوژنز و کلستریدیوم بوتولینوم که سموم مشـــابه استرپتولیزین را ترشـــح می‌کنند نیز ممکن اســـت همان مکانیســـم تکثیر را در میزبان دنبال کنند. از این رو، عفونت ناشـــی از آن‌ها نیز ممکن است با استفاده از L - آسپاراژیناز درمان شوند (۵۲).



شکل ۲- تکثیر استرپتوکوکوس های گروه A در حضور سطح بالایی از L-آسپاراژین از عفونت را نشان می‌دهد (۲۳).

❑ بیماری‌های خود ایمنی

همچنین مشاهده شد که L - آســـپاراژیناز دارای اثرات ایمنی و ضد التهابی در بیماران اســـت و به شـــدت قادر به سرکوب پاسخ‌های سلول B با واسطه سلول T می‌باشد. تأثیر آن بر سیســـتم لنفاوی شانس استفاده از آنزیم را در درمان بیماری‌هـــای خود ایمنی مرتبط با پاســـخ‌های غیر طبیعی ســـلول T افزایش می‌دهد. تلاش برای درمان موش‌های نر DBA/1 که دارای ورم مفاصل ناشـــی از کلاژنی (CIA[۷]) با L-آسپاراژیناز از اشریشـــیا کلی بودند، انجام شد. مشخص شد که آنزیم به طور مؤثر شدت ورم مفاصل را در موش‌های دچار آرتریت القاء شـــده توسط کلاژن کاهش می‌دهد. یک مطالعه مقایسه‌ای نشان داد که این دارو همچنین موثرتر و سمیت کمتری نسبت به سیکلوفسفامید (داروی استاندارد) در درمان CIA دارد. این مطالعه به بررســـی کیفیت پنهان این آنزیم برای درمان بیماری‌های خود ایمنی مانند آرتریت روماتوئید در آینده می‌پردازد (۵۳).

❑ نتیجه گیری

اولین آنزیم جدا ســـازی شـــده باکتریایـــی که وارد پزشـــکی بالینی شد آنزیم L-آســـپاراژیناز بود. امروزه آنزیـــم L-آســـپاراژیناز را از باکتری‌هـــای اشریشـــیا کلی با نـــام تجاری (EcA) و اوینیا کریســـاتمی با نام تجاری (ErA) شـــناخته شده‌اند و برای درمان لوسمی لنفوبلاستیک حاد مورد اســـتفاده قرار می‌گیرد. طیف وســـیعی از میکروارگانیســـم‌ها که شـــامل باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌های رشـــته‌ای می‌باشد به عنوان منبع ایـــده آل و قوی بـــرای آنزیم L- آســـپاراژیناز در نظر گرفته می‌شوند. آنزیم L-آسپاراژیناز تولید شده توسط میکروارگانیســـم‌ها بر منابع گیاهـــی و حیوانی به علت صرفه‌های اقتصـــادی و اصلاح فرآینـــد ترجیح داده و آنزیم‌های جدا شـــده از میکروارگانیسم‌ها نسبتاً بیشتر و پایدارتر از سایر منابع می‌باشد.

7- Collagen-Induced Arthritis

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-08]

References:

1- Singh Y, Gundampati RK, Jagannadham MV, Srivastava S. Extracellular L-asparaginase from a protease-deficient Bacillus aryabhattai ITBHU02: purification, biochemical characterization, and evaluation of antineoplastic activity in vitro. Applied biochemistry and biotechnology. 2013;171:1759-74.

2- Boyse EA, Old LJ, Campbell H, Mashburn LT. Suppression of murine Leukemias By L-asparaginase: Incidence of sensitivity among leukemias of various types: comparative inhibitory activities of guinea pig serum L-asparaginase and Escherichia coli L-asparaginase. The Journal of experimental medicine. 1967;125(1):17-31.

3- Ebrahimipour GH, Movahed MG. An Overview of Asparaginase Enzyme Features: An Anticancer Enzyme with High Potency. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2020.

4- Yazdani R, Mobini-Dehkordi M, Rastegari AA. Isolation and identification of native Iranian L-asparaginase producing bacteria. Journal of Microbial World. 2012;5(1&2):39-46.

5- Zolfaghar M, Amoozegar MA, Khajeh K. Production of extracellular L-asparaginase by halophilic bacterium vibrio sp. Biological Journal of Microorganism. 2016;5(18):41-54.

6- Chan WK, Lorenzi PL, Anishkin A, Purwaha P, Rogers DM, Sukharev S, et al. The glutaminase activity of L-asparaginase is not required for anticancer activity against ASNS-negative cells. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2014;123(23):3596-606.

7- Avramis VI, Tiwari PN. Asparaginase (native ASNase or pegylated ASNase) in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. International journal of nanomedicine. 2006;1(3):241.

8- Margolin JF. Acute lymphoblastic leukemia. Principle and Practice of Pediatric Oncology. 1997:409-62.

9- Nguyen HA, Su Y, Zhang JY, Antanasijevic A, Caffrey M, Schalk AM, et al. A novel l-asparaginase with low l-glutaminase coactivity is highly efficacious against both T-and B-cell acute lymphoblastic leukemias in vivo. Cancer research. 2018;78(6):1549-60.

10- Brumano LP, da Silva FVS, Costa-Silva TA, Apolinário AC, Santos JHPM, Kleingesinds EK, et al. Development of L-asparaginase biobetters: current research status and review of the desirable quality profiles. Frontiers in bioengineering and biotechnology. 2019;6:212.

11- Patel PG, Panseriya HZ, Vala AK, Dave BP, Gosai HB. Exploring current scenario and developments in the field of microbial L-asparaginase production and applications: A review. Process Biochemistry. 2022.

12- Knott SR, Wagenblast E, Khan S, Kim SY, Soto M, Wagner M, et al. Asparagine bioavailability governs metastasis in a model of breast cancer. Nature. 2018;554(7692):378-81.

13- Pavlova NN, Hui S, Ghergurovich JM, Fan J, Intlekofer AM, White RM, et al. As extracellular glutamine levels decline, asparagine becomes an essential amino acid. Cell metabolism. 2018;27(2):428-38. e5.

14- Luo M, Brooks M, Wicha MS. Asparagine and glutamine: co-conspirators fueling metastasis. Cell metabolism. 2018;27(5):947-9.

15- Janakiraman S. A simple and efficient dye-based technique for rapid screening of fungi For L-asparaginase production. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences. 2015;3(2):123-30.

16- Yun M-K, Nourse A, White SW, Rock CO, Heath RJ. Crystal structure and allosteric regulation of the cytoplasmic Escherichia coli L-asparaginase I. Journal of molecular biology. 2007;369(3):794-811.

17- Lanvers-Kaminsky C. Asparaginase pharmacology: challenges still to be faced. Cancer chemotherapy and pharmacology. 2017;79:439-50.

18- Hosamani R, Kaliwal B. L-asparaginase an anti-tumor agent production by Fusarium equiseti using solid state fermentation. Int J Drug Discov. 2011;3(2):88-99.

19- Singh Y, Srivastava S. Screening and characterization of microorganisms capable of producing antineoplastic drug, L-asparaginase. Int J Biol Med Res. 2012;3(4):2548-54.

20- Doriya K, Kumar DS. Isolation and screening of L-asparaginase free of glutaminase and urease from fungal sp. 3 Biotech. 2016;6:1-10.

21- Shrivastava A, Khan AA, Shrivastav A, Jain SK, Singhal PK. Kinetic studies of L-asparaginase from Penicillium digitatum. Preparative Biochemistry and Biotechnology. 2012;42(6):574-81.

22- Lea PJ, Sodek L, Parry MA, Shewry PR, Halford NG. Asparagine in plants. Annals of applied biology. 2007;150(1):1-26.

23- Vimal A, Kumar A. Biotechnological production and practical application of L-asparaginase enzyme. Biotechnology and genetic engineering reviews. 2017;33(1):40-61.

24- Costa IM, Schultz L, de Araujo Bianchi Pedra B, Leite MSM, Farsky SH, De Oliveira MA, et al. Recombinant L-asparaginase 1 from Saccharomyces cerevisiae: an allosteric enzyme with antineoplastic activity. Scientific reports. 2016;6(1):36239.

25- El-Gendy MMAA, Al-Zahrani SHM, El-Bondkly AMA. Construction of potent recombinant strain through intergeneric protoplast fusion in endophytic fungi for anticancerous enzymes production using rice straw. Applied biochemistry and biotechnology. 2017;183:30-50.

26- Hegazy WK, Moharam ME. L-asparaginase hyperproducing recombinant Bacillus strains obtained by interspecific protoplast fusion. Journal of Genetic engineering and Biotechnology. 2010;8(2):67-74.

27- Subramaniyam R, Vimala R. Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. Int J Sci Nat. 2012;3(3):480-6.

28- Prema P, Devi MN, Alagumanikumaran N. Production of tumor inhibitory L-asparaginase by wild and mutant strains of Pseudomonas fluorescens. International Journal of Advanced Research. 2013;1(4):163-71.

29- Soniyamby A, Lalitha S, Praveesh B, Priyadarshini V. Isolation, production and anti-tumor activity of L-asparaginase of Pencillium sp. International Journal of Microbiological Research (IJMR). 2011;2(1):38-42.

30- Sudhir AP, Dave BR, Trivedi KA, Subramanian RB. Production and amplification of an l-asparaginase gene from actinomycete isolate Streptomyces ABR2. Annals of microbiology. 2012;62:1609-14.

31- Ghosh S, Murthy S, Govindasamy S, Chandrasekaran M. Optimization of L-asparaginase production by Serratia marcescens (NCIM 2919) under solid state fermentation using coconut oil cake. Sustainable Chemical Processes. 2013;1(1):1-8.

32- Kattimani L, Amena S, Nandareddy V, Mujugond P. Immobilization of Streptomyces gulbargensis in polyurethane foam: a promising technique for L-asparaginase production on. Iranian Journal of Biotechnology. 2009;7(4):199-204.

33- Tundisi LL, Coelho DF, Zanchetta B, Moriel P, Pessoa Jr A, Tambourgi EB, et al. L-asparaginase purification. Separation & Purification Reviews. 2017;46(1):35-43.

34- Cachumba JJM, Antunes FAF, Peres GFD, Brumano LP, Santos JCD, Silva SSD. Current applications and different approaches for microbial L-asparaginase production. Brazilian journal of microbiology. 2016;47:77-85.

35- Krishnapura PR, Belur PD. Partial purification and characterization of L-asparaginase from an endophytic Talaromyces pinophilus isolated from the rhizomes of Curcuma amada. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2016;124:83-91.

36- Petros RA, DeSimone JM. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. Nature reviews Drug discovery. 2010;9(8):615-27.

37- Wang F, Zhang Y-Q. Bioconjugation of silk fibroin nanoparticles with enzyme and peptide and their characterization. Advances in protein chemistry and structural biology. 2015;98:263-91.

38- Teodor E, Litescu S-C, Lazar V, Somoghi R. Hydrogel-magnetic nanoparticles with immobilized L-asparaginase for biomedical applications. Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 2009;20:1307-14.

39- Mu X, Qiao J, Qi L, Dong P, Ma H. Poly (2-vinyl-4, 4-dimethylazlactone)-functionalized magnetic nanoparticles as carriers for enzyme immobilization and its application. ACS Applied Materials & Interfaces. 2014;6(23):21346-54.

40- Muthukumar T, Chamundeeswari M, Prabhavathi S, Gurunathan B, Chandhuru J, Sastry TP. Carbon nanoparticle from a natural source fabricated for folate receptor targeting, imaging and drug delivery application in A549 lung cancer cells. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2014;88(3):730-6.

41- Ortac I, Simberg D, Yeh Y-s, Yang J, Messmer B, Trogler WC, et al. Dual-porosity hollow nanoparticles for the immunoprotection and delivery of nonhuman enzymes. Nano letters. 2014;14(6):3023-32.

42- Sivasankar P, Sugesh S, Vijayanand P, Sivakumar K, Vijayalakshmi S, Balasubramanian T, et al. Efficient production of L-asparaginase by marine Streptomyces sp. isolated from Bay of Bengal, India. Afr J Microbiol Res. 2013;7(31):4015-21.

43- Naveena B, Narayani T, Sakthiselvan P, Partha N. Antioxidant and antimicrobial efficacies of Amaranthus polygonoides and its impact on L-asparaginase production. African Journal of Biotechnology. 2012;11(61):12483-90.

44- Clementi A. La désamidation enzymatique de l'asparagine chez les différentes espéces animales et la signification physio logique de sa presence dans l'organisme. Archives Internationales de Physiologie. 1922;19(4):369-98.

45- Broome J. Evidence that the L-asparaginase activity of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. Nature. 1961;191(4793):1114-5.

46- Mashburn LT, Wriston Jr JC. Tumor inhibitory effect of L-asparaginase. Biochemical and biophysical research communications. 1963;12(1):50-5.

47- Patil MP, Patil RH, Maheshwari VL. A novel and sensitive agar plug assay for screening of asparaginase-producing endophytic fungi from aegle marmelos. Acta Biologica Szegediensis. 2012;56(2):175-7.

48- Abd El Baky HH, El Baroty GS. Optimization of growth conditions for purification and production of L-asparaginase by Spirulina maxima. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2016;2016.

49- Warangkar S, Khobragade C. Screening, enrichment and media optimization for L-asparaginase production. Journal of cell and tissue research. 2009;9(3):1963.

50- Baruch M, Belotserkovsky I, Hertzog BB, Ravins M, Dov E, McIver KS, et al. An extracellular bacterial pathogen modulates host metabolism to regulate its own sensing and proliferation. Cell. 2014;156(1):97-108.

51- Reiff A, Zastrow M, Sun B, Takei S, Mitsuhada H, Bernstein B, et al. Treatment of collagen induced arthritis in DBA/1 mice with L-asparaginase. Clinical and experimental rheumatology. 2001;19(6):639-46.

52- Pokrovsky VS, Chepikova OE, Davydov DZ, Zamyatnin Jr AA, Lukashev AN, Lukasheva EV. Amino acid degrading enzymes and their application in cancer therapy. Current medicinal chemistry. 2019;26(3):446-64.

53- Beckett A, Gervais D. What makes a good new therapeutic L-asparaginase? World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2019;35(10):152.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-12-08]