کاربردهای بالقوه باکتریوفاژها در پزشکی؛ تصویربرداری پزشکی، رسانش هدفمند دارو و ژن

محمد خلج کندری[1*]

۱) گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۰

چکیده

علی رغم پیشرفت های حاصل در روش های درمانی و آشکارسازی، و نیز یافتن داروهای موثر در درمان بیماری هایی مثل سرطان، استفاده از آن ها در بیماران همراه با عوارض جانبی شدید می باشد. زیرا اغلب این داروها اختصاصی سلول های سرطانی نبوده، بر سلول های طبیعی نیز تاثیر می گذارند. بنا بر این رسانش هدفمند مواد درمانی حائز اهمیت فوق العاده ای است. باکتریوفاژها زیر گروهی از نانوذرات ویروسی(VNPs) هستند که پتانسیل انتقال هدفمند مواد درمانی به سلول ها و بافت های هدف را دارند و در سال های اخیر از این جنبه مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته اند. مطالعات مختلف نشان می دهند که باکتریوفاژها نه تنها توانایی انتقال هدفمند سازه های ژنی، مواد درمانی و مواد تصویربرداری به سلول ها و بافت های هدف را دارند بلکه دارای توزیع بافتی و پاک سازی از خون بسیار مناسبی نیز هستند. هم چنین، تصاویر حاصل از روش های تصویربرداری مختلف رادیواکتیو و نوری به علت نفوذ بافتی بالا در روش استفاده از باکتریوفاژها وضوح بسیار خوبی دارند. گذشته از این، روش های مبتنی بر باکتریوفاژها دارای مزایایی از قبیل بی خطری و هزینه پایین هستند. با توجه به مزیت های فراوان، انتظار می رود در آینده نزدیک باکتریوفاژها به عنوان ابزاری مناسب در ارزیابی های مختلف بالینی مورد استفاده قرار گیرند. در این مقاله کاربردهای بالقوه باکتریوفاژها به عنوان ابزاری مناسب در تصویربرداری پزشکی، انتقال هدفمند دارو و ژن مورد بررسی قرار می گیرد.

واژه های کلیدی: نانو داروی فاژی، هدفگذاری فاژ، رسانش هدفمند ژن و دارو، تصویر برداری پزشکی

*نویسنده مسئول: گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران Email: khalaj@tabrizu.ac.ir

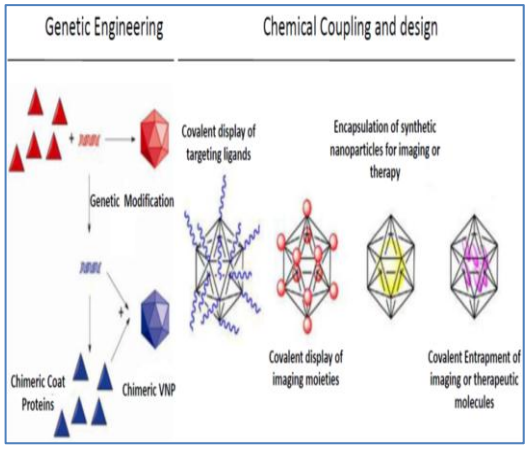
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

مقدمه

پیشرفت‌های حاصل در نانوبیوتکنولوژی به ساخت نانومواد جدیدی انجامیده است که امکان اتصال ملکول - های هدفگیری را با ملکول های درمانی یا تصویربرداری فراهم کرده است. بدین ترتیب امید می رود که این مواد، بتوانند داروها و یا عوامل تصویربرداری را به مکان های خاص مورد نظر انتقال دهند تا تصاویر با وضوح بالا و درمان با دوز بالای دارو با کمترین اثر جانبی فراهم شود(۱). نانومواد مختلفی از قبیل کوانتوم دات ها، ویزیکول های پلیمری، دندریمرها، لیپوزوم ها و نانوساختارهای پروتئینی از قبیل نانوذرات ویروسی(VNPs) و ذرات شبه ویروسی(VLPs) بدین منظور مورد بررسی قرار گرفته اند که هر کدام مزایا و معایب خود را دارند(۵-۲).

کمی بیش از یک دهه پیش برای اولین بار باکتریوفاژها و به طور کلی ویروس ها به عنوان نانوذرات ویروسی(VNPs) نامیده شدند(۶). VNPs، نانومواد طبیعی هستند که در فرآیندهای مختلف نانوپزشکی از قبیل تصویربرداری اختصاصی بافتی، انتقال دارو و انتقال ژن جذابیت زیادی دارند زیرا هم سازگاری زیستی آن ها بالاست و هم به علت تجزیه پذیر بودن آلودگی زیستی و محیطی به جا نمی گذارند(۷). استفاده از VNPs به سرعت افزایش یافته است چرا که می توان با استفاده از مواد فلوئورسانس، لیگاندهای هدفگذاری و ملکول های درمانی، عملکردهای ویژه و دلخواهی به آن ها بخشید. برای دادن عملکردهای دلخواه به نانوذرات ویروسی می توان از روش های اتصال شیمیایی مختلف، دست ورزی ژنتیکی، مینراله کردن، کپسوله کردن و یا تلفیقی از آن ها استفاده کرد(۸). با این روش ها می توان طیفی از لیگاندهای مختلف، از ملکول های شیمیایی کوچک تا پپتیدها، پروتئین ها و حتی نانوذرات دیگر را به VNPs متصل کرد(شکل شماره ۱).

باکتریوفاژهای تغییریافته زیر گروهی از نانوذرات ویروسی هستند که در نانوبیوتکنولوژی و نانوپزشکی از اهمیت ویژه ای برخوردارند. زیرا علاوه بر روش های مذکور در بالا، فناوری فاژنمایی قدرت هدفمندسازی آن ها را تا حد زیادی افزایش داده است. علاوه بر این، ساخت کتابخانه های پپتیدی نمایش داده شده بر سطح فاژها به ویژه فاژ M13، و نیز قابل دسترس بودن نوع تجاری آن Ph.D.™ phage display از شرکت New England Bio labs امکان غربالگری و یافتن پپتیدهای اختصاصی هدفگیری کننده سلول ها یا بافت های مختلف را تسهیل کرده است. از دیگر مزایای باکتریوفاژها می توان به ارزان بودن و امکان تولید در مقیاس بزرگ، پایداری بالا، بی خطر بودن نسبت به پستانداران از جمله انسان، سازگاری نسبی سیستم ایمنی و لذا عدم پاسخ ایمنی، تشکیل خود به خودی ذرات هم شکل و هم اندازه اشاره کرد(۹،۷).



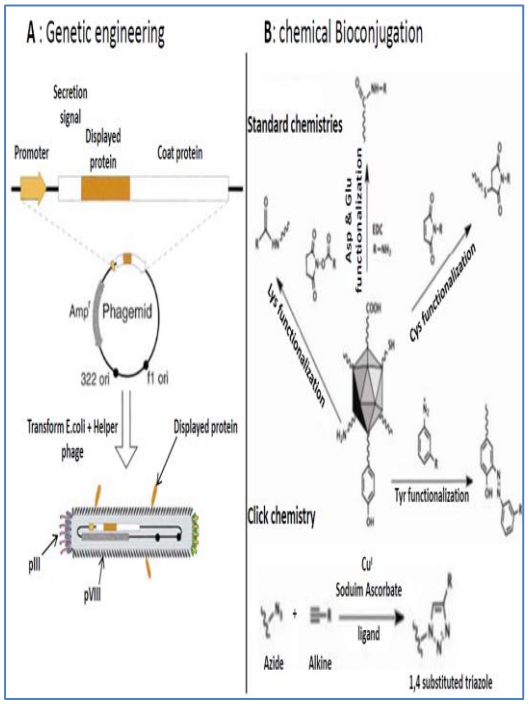
شکل شماره ۱. برخی روش های دادن عملکردهای متفاوت به NPs(اقتباس از منابع ۱ و ۸ با اعمال تغییرات).

کاربردهای بالقوه VNPs را می توان به چند دسته کلی تقسیم کرد: ۱-تهیه واکسن، ۲-طراحی ابزارهای هدفمند برای تصویربرداری و یا درمان اختصاصی بافتی، ۳-طراحی وسایل ذخیره اطلاعات و دیگر ابزارهای الکترونیکی، ۴-تهیه ورقه ها و آرایه هایی با کاربردهای مختلف که می توان آن ها را در صنایع مختلف از صنعت الکترونیک گرفته تا مهندسی بافت به کار برد(۶). با توجه به گستردگی کاربردهای VNPs، در مقاله حاضر تنها کاربردهای بالقوه VNPs مشتق از باکتریوفاژها در تصویربرداری پزشکی، انتقال هدفمند دارو و انتقال ژن و ژن درمانی مورد بررسی قرار می گیرد. هم چنین روش های مختلف هدفگذاری، خطرات احتمالی و نحوه توزیع آن ها در بدن، و نیز روش - های برطرف کردن مشکلات مرتبط با آن ها بررسی خواهد شد.

روش های هدفگذاری فاژها: رایج ترین روش های هدفگذاری باکتریوفاژها را می توان به دو دسته تقسیم کرد: ۱-روش های دستکاری ژنتیکی، ۲-روش های اتصال شیمیایی(شکل شماره ۲). به طور کلی در روش های دستکاری ژنتیکی، توالی کدکننده یک لیگاند پپتیدی یا پروتئینی در چارچوب قرائت رمزهای مربوط به یک ژن پوشش پروتئینی فاژی وارد می شود به طوری که بیان آن ژن هیبرید منجر به تولید پروتئین فیوژن جدیدی می شود که علاوه بر توالی پروتئین پوششی، توالی لیگاند را هم

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

دارد(۱۲-۱۰). وقتی این پروتئین هیبرید جدید به همراه دیگر پروتئین های پوششی برای تشکیل ذرات فاژی به کار می روند برخی از پروتئین های هیبرید در ساختار پوشش فاژ وارد شده، لیگاند مورد نظر در سطح ذرات فاژی نمایش داده می شود(شکل شماره ۲ A). این روش دارای نقاط قوت و ضعفی است. مهم ترین نقطه قوت آن عدم نیاز به تکرار فرآیند کلونینگ است چرا که وقتی یک بار سازه هیبریدی طراحی و ساخته می شود آن سازه را می توان به طور نامحدود برای تهیه فاژهای نمایش دهنده لیگاند مورد نظر مورد استفاده قرار داد. مهم ترین نقطه ضعف این روش آن است که نمی توان لیگاندهای با اندازه بزرگ را در تعداد زیاد در سطح ذرات فاژی بروز داد(۹)، چون وقتی اندازه یک لیگاند بزرگ باشد پروتئین هیبرید حاصل نمی تواند به تعداد زیاد در ساختار پوشش فاژ وارد شود زیرا باعث ناپایداری شده، بسته بندی و تشکیل خود به خودی ذرات فاژ را مختل می کند(۱۴،۱۳). از طرفی کارایی اتصال و ورود ذرات فاژی به سلول های یوکاریوت با تعداد ملکول های لیگاند نمایش داده شده در سطح فاژ نسبت مستقیم دارد(۱۷-۱۵). بنا بر این استفاده از روش های دیگر برای غلبه به این مشکلات امری ضروری خواهد بود.



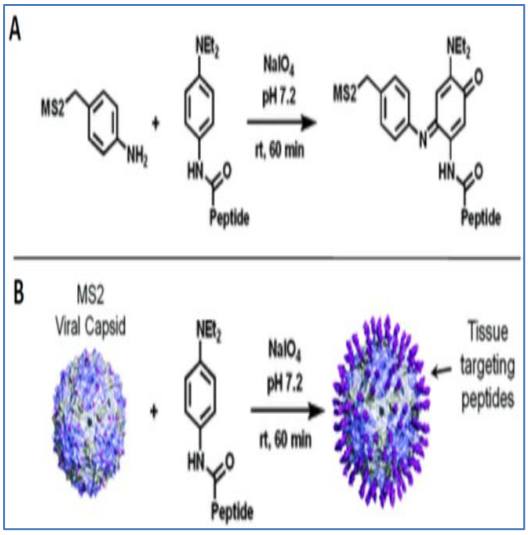
شکل شماره ۲. روش های اصلی هدفگذاری نانوذرات فاژی، A) روش مهندسی ژنتیک که تنها یک نوع از آن در فاژ M13 نشان داده شده است. B) روش های مختلف اتصال شیمیایی شامل روش های استاندارد و شیمی کلیک(اقتباس از منابع ٦ و ١٢ با اعمال تغییرات)

راهکارهای دیگر هدفگذاری فاژها مبتنی بر روش های متنوع اتصال شیمیایی است(شکل شماره ۲ B). در این روش ها به طور کلی از عامل های فعال موجود در زنجیره های فرعی اسیدآمینه ها برای برقراری واکنش اتصال استفاده می شود(۱۹-۱۷،۹). مهم ترین این عامل ها، گروه های کربوکسیل و گروه های آمینی اسیدآمینه های اسیدی و بازی است که به خاطر پروتئینی بودن پوشش فاژها به طور طبیعی در ساختار آن ها وجود دارد. برای اتصال به گروه آمین زنجیره جانبی اسیدآمینه لیزین، از ماده شیمیایی NHS و برای اتصال به گروه کربوکسیل زنجیره جانبی اسیدآمینه های آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید، از ماده EDC استفاده می کنند. شیمی NHS و شیمی EDC روش های معمول و استاندارد شده برای اتصال شیمیایی لیگاندها به گروه های فعال آمین و کربوکسیل می باشند. در کنار این روش های استاندارد روش های دیگری هم وجود دارند تا در مواردی که روش های استاندارد برای اتصال قابل استفاده نباشند و یا لیگاند مورد استفاده برای اتصال کمیاب و پرهزینه باشد به کار گرفته شوند. از جمله این روش ها، روش نسبتاً نوین CuAAC است که شیمی click نیز نامیده می شود(۲۰). این روش که ابتدا توسط گروه تحقیقاتی Finn معرفی و مورد استفاده قرار گرفته است، روشی است که در مقایسه با روش های NHS و EDC سریع تر و دقیق تر می‌باشد. آن ها از این روش برای تغییر دادن سطح ذرات ویروس موزائیک لوبیای چشم بلبلی(CPMV) و ویروس هپاتیت B (HBV) و نیز باکتریوفاژ QB استفاده کردند(۲۳-۲۰). اخیراً پروتکل بهینه شده این روش همراه با جزئیات آن منتشر شده است(۲۳).

در برخی دیگر از راهبردها، پژوهشگران از روش های دستکاری ژنتیکی و اتصال شیمیایی به صورت توام استفاده کرده اند(شکل شماره ۳). به عنوان مثال گروه پژوهشی Francis با دستکاری ژنتیکی و وارد کردن یک اسیدآمینه غیرطبیعی به نام پارا-آمینو-ال- فنیل آلانین(pAF) در ساختار کپسید باکتریوفاژ MS2، آن را برای اتصال لیگاندهای مختلف از قبیل پورفیرین ها، آپتامرها و پپتیدهای هدفگیری کننده به کار بردند(۲۶-۲۴). مزیت روش آن ها مشخص بودن تعداد و نیز مکان های اتصال(pAF) است که برای اتصال شیمیایی ملکول های هدفگیری مورد استفاده قرار می گیرند. می توان گفت که تلفیق بیولوژی ملکولی و شیمی بیوکانژوگاسیون در ایجاد روش های درمانی نوین نویدبخش است و نقطه عطف آن در به کار گیری هم زمان اسیدآمینه های طبیعی و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

غیرطبیعی در روی یک نانوذره ویروسی خواهد بود چرا که در این صورت امکان اتصال هم زمان چند ملکول لیگاند مختلف با عملکردهای متفاوت از قبیل ملکول های هدفگیری، داروها و مواد تصویربرداری فراهم می شود. شایان ذکر است که دیگر روش های مختلف اتصال شیمیایی توسط Pokorski و همکاران به خوبی مرور شده است و برای آگاهی از جزئیات آن ها به منبع ۶ مراجعه شود(۶).



شکل شماره ۳. پروتئین پوششی فاژ MS2 طوری مهندسی شده است که اسیدآمینه غیر طبیعی پارا-آمینو-ال-فنیل آلانین(pAF) که دارای گروه فعال NH2 می باشد در توالی پروتئین پوششی قرار گرفته و در سطح فاژ بروز پیدا کرد. سپس پپتیدهای هدفگیری دارای گروه فعال فنیلن دی آمین به روش اکسیداتیو در حضور پریدات سدیم با ذرات فاژی MS2-pAF واکنش داده، به سطح ذرات فاژ متصل شدند. قسمت A روش تهیه را با نشان دادن گروه های فعال و قسمت B شکل شماتیک آن را نشان می دهد.(اقتباس از منبع ۲۵ با اعمال تغییرات)

استفاده از باکتریوفاژها در تصویربرداری پزشکی:

اخیراً از VNPs بر پایه ویروس های به دست آمده از منابع مختلف گیاهی و باکتریایی در تصویربرداری از تومورها استفاده شده است(۲۷،۲۸). پژوهشگران با استفاده از غربالگری کتابخانه پپتیدهای تصادفی فاژی، پپتیدهای هدفگیری اختصاصی سلول های توموری را شناسایی و از فاژهایی که این پپتیدها را در سطح خود بروز می کنند برای انتقال اختصاصی دارو و نیز تصویربرداری از تومورها استفاده کرده اند(۲۷). برای کاربرد این فاژها در تصویربرداری، رنگ های مختلف فلورسنت و نیز برچسب های رادیواکتیو را به سطح ذرات فاژی متصل می کنند. ذرات فاژی حاصل می توانند به طور اختصاصی به سلول های سرطانی متصل شده، وارد آن ها شوند و تراکم بالایی از سیگنال های تصویربرداری را در سلول ها و بافت های سرطانی که برای تشخیص و ایجاد تصویر واضح ضروری است فراهم کنند(۲۷،۲۹،۳۰).

برخی آزمایشگاه ها، استفاده از فاژها را به عنوان مواد تصویربرداری در روش های تصیربرداری رادیواکتیو مانند PET و SPECT بهینه سازی کرده اند. مثلاً در یکی از مطالعات اولیه، فاژ نشاندار شده با ^{99m}Tc برای آشکارسازی و تصویربرداری از عفونت های باکتریایی در موش به کار گرفته شد(۳۲،۳۱) و متعاقباً این شیوه برای تصویربرداری درون تنی تومور توسعه پیدا کرد(۳۴،۳۳). اما بررسی مقالات منتشر شده نشان می دهد استفاده از رنگ های فلورسنت برای نشاندار کردن فاژها جهت استفاده در تصویربرداری نوری بیشتر مورد استقبال پژوهشگران قرار گرفته است. روش های متنوعی برای اتصال رنگ های فلورسنت از قبیل FITC، AF647، AF680 و AF750 به پروتئین pVIII فاژ M13 مورد استفاده قرار بوده است(۳۴). در مطالعه ای Kelly AK و همکاران با غربالگری کتابخانه پپتیدی فاژی M13 علیه استئونکتین و VCAM-1 ذرات فاژی بروزدهنده پپتید هدفگیری این پروتئین ها را جداسازی کرده، مستقیماً با رنگ های فلورسنت مختلف متصل کردند. آن ها نشان دادند که نه تنها فاژهای نشاندار شده با فلوروکروم ها اختصاصیت اتصال به سلول های هدف را حفظ کرده اند بلکه توزیع درون توموری آن ها به صورت کمی قابل ارزیابی است و عملاً توانستند با روش - های مختلف تصویربرداری از قبیل SRI، FMT، ILSM فاژهای وارد شده به تومور را آشکارسازی کرده، استفاده از فاژهای هدفگذاری شده و نشاندار شده را در تصویربرداری از تومورها نشان دهند(۳۵). این یافته ها نشان می دهند که فاژها به خاطر داشتن مزیت هایی از قبیل ارزانی، سهولت تولید، پایداری در شرایط مختلف، داشتن ظرفیت بالای حمل فلوروفور و ایجاد تصاویر با وضوح بالا، سازگاری زیستی و ایمنی، گزینه مناسبی برای استفاده در تصویربرداری پزشکی و شناسایی زود هنگام سرطان می باشند.

استفاده از باکتریوفاژها در انتقال هدفمند دارو:

باکتریوفاژها برای انتقال هدفمند داروهای ضد سرطان به سلول ها و بافت های سرطانی به کار گرفته شده اند(۳۷،۳۶). برخی پژوهشگران با اتصال شیمیایی پپتیدهای هدفگیری کننده اختصاصی به دست آمده از غربالگری

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

کتابخانه های پپتیدی فاژی به داروهای مختلف از قبیل doxorubicin(۳۸)، پپتیدهای پیش آپپتوزی(۴۰،۳۹)، و سایتوکین ها(۴۱)، کارایی و اختصاصیت آن ها را در درمان و پیشگیری از رشد سلول های سرطانی مختلف از قبیل سرطان سینه(۳۸)، سرطان پروستات(۳۹)، مدل های لنفوما و میلوما(۴۱)، بهبود داده اند. اما برخی دیگر از پژوهشگران با اتصال شیمیایی داروهای مختلف به سطح ذرات فاژی نمایش دهنده پپتدهای هدفگیری، آن ها را به بافت های هدف از جمله بافت های سرطانی ارسال کرده اند. Wu W و همکاران با اتصال داروی ضد سرطان تاکسول به باکتریوفاژ MS2 کارآیی آن را بر روی سلول های MCF-7 سرطان سینه نشان دادند(۴۲). هم چنین آن ها توانستند با طراحی آپتامر اختصاصی و اتصال آن به سطح ذرات باکتریوفاژی MS2 فاقد ژنوم، آن ها را به سلول های T Jurkat هدفگیری و ارسال کنند(۴۳). داروی ضد سرطان doxorubicinبا روش شیمیایی به سطح ذرات VNPs مشتق از CPMV اتصال داده شده، برای از بین بردن سلول های هلا مورد استفاده قرار گرفته است(۴۴). Bar H و همکاران ذرات باکتریوفاژ M13 را به روش ژنتیکی مهندسی کردند به طوری که این ذرات فاژی آنتی بادی علیه ErbB2 یا EGFR را به عنوان ملکول هدفگیری در سطح خود بروز دادند و با اتصال شیمیایی داروهای شیمی درمانی doxorubicin و hygromycin به سطح ذرات باکتریوفاژی، نانوداروی فاژی هدفگذاری شده به دست آوردند. نتایج تیمار آن ها بر روی رده های سلولی سرطانی نشان داد که نانوداروی فاژی وارد سلول های سرطانی شده، پس از تخریب و رهایش دارو درون سلول، در مقایسه با داروی هدفگیری نشده بیش از ۱۰۰۰ برابر رشد سلول های سرطانی را مهار می کند(۴۵). متشابه با این کار به جایگاه ویژه ای از پروتئین پوششی ذرات فاژی MS2، توکسین ها، داروهای کشنده سلولی از قبیل ricin A و یا مشتقات نوکلئوتیدی از قبیل ۵-فلورویوریدین به صورت کووالان اتصال داده شدند به طوری که داروها می توانستند درون این ذرات کپسوله شوند. سپس ذرات حاصل با اتصال شیمیایی ترانسفرین و یا آنتی بادی به سطحشان به طور اختصاصی سلول های سرطانی را مورد هدف قرار دادند(۴۶).

VLPs مشتق از باکتریوفاژها هم چنین برای انتقال هدفمند پروتئین(۴۷)، و RNA های کوچک مداخله گر(siRNA) که کلاس جدیدی از مواد درمانی به حساب می آیند نیز به کار برده شده اند(۴۹،۴۸). در یک مطالعه ملکول های siRNA، درون ذرات شبه ویروسی مشتق از فاژ MS2 بارگذاری شده و با اتصال مولکول های ترانسفرین هدفگذاری شدند. سپس این ذرات برای تیمار رده سلولی هلا مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان داد که ذرات شبه ویروسی مشتق از فاژ MS2 با کارآیی بالایی siRNA ها را به سلول های هدف منتقل می کنند و می توانند به عنوان یک کاندید مطلوب برای رسانش siRNA ها محسوب شوند(۴۹). هم چنین Brunel FM و همکاران با اتصال پپتید F56 به سطح ذرات ویروسی CPMV انتقال هدفمند آن ها به توده توموری را به صورت in vivo نشان دادند. پپتید مذکور به گیرنده فاکتور رشد اندوتلیال عروقی-۱ (VEGFR-1) که در سطح سلول های سرطانی HT-29 بیش بیان می شود به طور اختصاصی متصل می شود. آن ها با پیوند سلول های سرطانی HT-29 به موش، مدل سرطانی تهیه و اختصاصیت ذرات CPMV هدفگذاری شده با پپتید F56 را با تزریق سیستمیک بررسی کردند. نتایج حاصل نشان داد که این ذرات از لایه اندوتلیال عبور کرده و در توده توموری تجمع می یابند(۵۰). در مطالعه دیگری، توانایی نفوذ و اختصاصیت ذرات CPMV هدفگذاری شده با پپتیدی که اختصاصاً به گیرنده های پپتیدی آزادکننده گاسترین که در سطح سلول های سرطانی پروستات(PC-3) بیش بیان می شود مورد بررسی قرار گرفت. پس از پیوند و ایجاد مدل سرطانی در جنین جوجه، مشاهده شد که ذرات هدفگذاری شده در توده توموری تجمع می یابند(۵۱). علاوه بر این، گزارش شده است که هندسه و شکل ظاهری ذرات با قدرت نفوذ به بافت توموری و به ویژه عمق توده توموری مرتبط است(۵۲). مجموعه این مطالعات نشان می دهند که VLPs و VNPs پتانسیل چشمگیری در انتقال هدفمند دارو و درمان سرطان دارند.

باکتریوفاژها به عنوان نانودارو در مقابله با عفونت های باکتریایی نیز مورد استفاده قرار گرفته اند(۵۴،۵۳). Vaks L و همکاران با مهندسی باکتریوفاژ M13 و نمایش آنتی بادی علیه استافیلوکوکوس اورئوس در سطح آن توانستند ذرات فاژی را به سمت باکتری های هدف ارسال کنند. سپس با اتصال شیمیایی داروی ضد باکتری کلرامفنیکل به سطح ذرات فاژی نمایش دهنده آنتی بادی، دوز بالایی از دارو را به سمت باکتری هدف ارسال کرده، به خوبی از رشد و تکثیر آن ها جلوگیری کردند(۵۵،۵۳). کاربرد باکتریوفاژها به عنوان عوامل درمانی توسط Yacoby I و Benhar I مرور شده است(۵۶).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

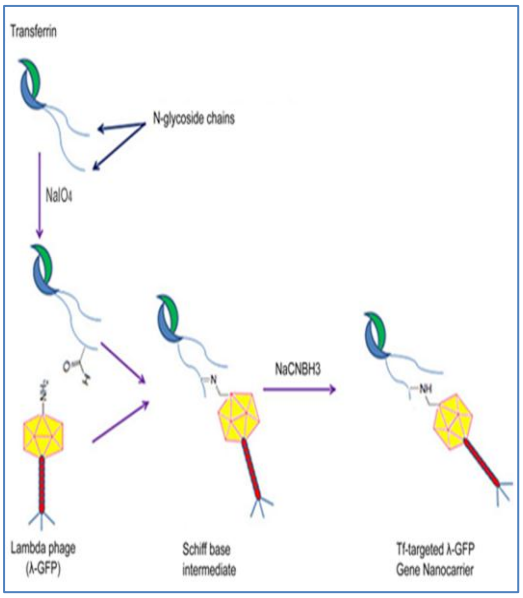
انتقال ژن و ژن درمانی با فاژها: انتقال ژن، هم توسط فاژهای رشته ای(۵۷)، و هم فاژهای سر–دم دار از قبیل باکتریوفاژ لامبدا(۵۸)، به سلول های یوکاریوتی به کمک روش های شیمیایی مثل کلسیم فسفات گزارش شده بود اما به دلیل کارآیی بسیار کم و عدم قابلیت استفاده در موجود زنده مورد توجه زیادی قرار نگرفته بود. در ادامه این گونه تحقیقات ساخت سازه فاژی حاوی ژن پروتئین فلورسانس سبز GFP تحت کنترل پروموترهای یوکاریوتی از قبیل CMV هم بر پایه فاژ لامبدا(۱۸)، و هم بر پایه فاژ M13(۱۰)، انجام شده است. هم چنین بررسی توانایی ذرات فاژی لامبدا و نیز M13 حاوی سازه های ژنی GFP برای انتقال و بیان ترانسژن در سلول های یوکاریوتی توسط گروه پژوهشی ما گزارش شده است. با ابداع فناوری فاژنمایی توسط Smith G. P(۵۹)، در سال ۱۹۸۵ فصل جدیدی در تحقیقات و استفاده از فاژها در پزشکی و متعاقب آن در انتقال ژن باز شد. در سال ۱۹۹۸، Larroca D و همکاران توانستند با تغییر ژنتیکی فاژ M13 و بروز FGF2 در سطح ذرات فاژی، ورود آن ها را به سلول های یوکاریوتی تسهیل و بهبود ببخشند(۶۰). این اولین گزارش مستند از قابلیت استفاده از فاژ تک رشته ای هدفگذاری شده به منظور انتقال ژن به سلول های یوکاریوتی می باشد که نشان می داد می توان با بهره گیری از فناوری فاژنمایی، از ذرات فاژی در انتقال ژن و ژن درمانی استفاده کرد. بعد از این گزارش، پژوهشگران در دانشگاه های مختلف برای آزمودن پتانسیل ذرات فاژی مختلف به عنوان حامل های ژنی به سلول های یوکاریوتی خیز برداشتند(۷۰–۱۶،۱۵،۱۱،۶۱). در این تلاش ها عوامل مختلف موثر در اتصال و ورود ذرات فاژی به درون سلول، رهایش DNA ترانسژن، انتقال آن به هسته و بیان ترانسژن در سلول های تیمار شده مورد ارزیابی و بهینه سازی قرار گرفتند. در سال ۱۹۹۹، Kassner PD و همکاران با مهندسی و نمایش پپتید هدفگیری EGF در سطح ذرات فاژی M13 نشان دادند که اتصال و ورود و بیان ترانسژن در سلول های COS-1 وابسته به تعداد و اختصاصیت ملکول هدفگیری، دوز مورد استفاده و زمان تیمار می باشد(۷۰). این نتایج توسط پژوهشگران دیگر نیز تایید شد(۱۵). Urbanelli, L و همکاران با غربالگری کتابخانه پپتیدی فیوز شده با پروتئین pVIII فاژ M13 توانستند پپتیدی پیدا کنند که اختصاصاً به گیرنده سطح سلولی HER2 متصل می شد. آن ها پپتید مذکور را به صورت متصل با پروتئین pIII در سطح ذرات فاژی دارای ترانسژن GFP بروز داده، سلول های HER2 مثبت را مورد هدف قرار دادند و نشان دادند که ذرات فاژی هدفگیری شده در مقایسه با ذرات فاژی هدفگیری نشده، بیش از هزار برابر کارآیی بالاتری برای انتقال و بیان ترانسژن دارند(۱۱). هم چنین برای بهبود کارآیی اتصال و ورود ذرات فاژی، پروتئین باز پنتون آدنوویروس در سطح ذرات فاژی لامبدا بروز داده شدند و ویژگی های اتصال و انتقال ذرات مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به این که آدنوویروس از این پروتئین برای ورود به سلول های یوکایوتی استفاده می کند بروز آن در سطح ذرات فاژ لامبدا کارآیی بسیار بالایی در مقایسه با ملکول های هدفگیری دیگر نشان داد(۶۵،۶۳).

با وجود این که می توان با روش شیمیایی ملکول های هدفگیری متنوع را به سطح ذرات فاژی متصل کرد و آن ها را به سمت سلول ها و بافت های هدف ارسال نمود(۱۸)، اما اکثر پژوهشگران برای انتقال ژن به واسطه فاژها از روش ژنتیکی و فاژنمایی برای هدفگیری ذرات فاژی استفاده کرده اند. اما با توجه به این که بروز ملکول های هدفگیری بزرگ و پیچیده در سطح فاژها به روش ژنتیکی و فاژنمایی مشکل و ناکارآمد است لذا در چنین مواردی می توان از روش شیمیایی برای هدفگیری ذرات فاژی استفاده کرد. خلجی و کندوری و همکاران با اتصال شیمیایی پروتئین ترانسفرین انسانی به سطح ذرات فاژی لامبدای دارای ترانسژن GFP، نانوحامل ژنی هدفمندی طراحی کرده و سلول های رده 293 T انسانی را با آن ها تیمار کردند. نتایج حاصل نشان داد که روش اتصال شیمیایی می تواند به عنوان یک روش جایگزین در آزمایشات انتقال ژن به واسطه فاژ به کار رود(۹). آن ها در این پژوهش برای اولین بار از روش اتصال شیمیایی برای هدفگیری ذرات فاژی لامبدا به رده سلول های سرطانی با هدف انتقال و بیان ترانسژن استفاده کردند. راهکار مورد استفاده برای هدفگیری در این پژوهش در شکل شماره ۴ نشان داده شده است. ترانسفرین گلیکوپروتئینی با دو زنجیره قندی می باشد که اگر تحت تاثیر سدیم پریدات قرار گیرد، اکسید شده، گروه فعال آلدئیدی تولید می کند. چون کپسید فاژ از جنس پروتئین است بنا بر این گروه جانبی اسیدآمینه های بازی مثل لیزین در سطح فاژ حضور خواهند داشت. اگر گروه فعال آلدئیدی در مجاورت گروه آمینی قرار گیرد با هم واکنش داده، تشکیل شیف–باز می دهند که در حضور مواد احیاء کننده ای مثل سدیم سیانو برموهیدرید پیوند کووالانسی برگشت ناپذیر تشکیل می شود. بنا بر این ملکول های ترانسفرین به سطح ذرات فاژی لامبدا متصل و نانوحامل ژنی هدفگیری شده حاصل می شود. چنین ذرات

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

فاژی که در سطح خود ملکول های هدفگیری ترانسفرین را نمایش می دهند می توانند سلول هایی را که در سطح خود گیرنده ترانسفرین را بیان می کنند مورد هدف قرار داده، وارد آن ها شوند(۹).

یکی از روش های ژن درمانی ممانعت از بیان ژن بیماریزا می باشد. بدین منظور می توان از RNA های کوچک مداخله گر استفاده کرد. اما مشکلاتی که در رسانش آن ها به سلول ها و بافت های هدف وجود دارد تا به حال استفاده بالینی آن ها را محدود کرده است. اخیراً Pan Y و همکاران به منظور غلبه بر این مشکلات سیستمی را برای انتقال microRNA به بافت هدف بر پایه فاژ MS2 طراحی کردند. آن ها سازه ژنی حاوی توالی کدکننده pre-miR146a را در داخل فاژ MS2 بسته بندی کردند و ذرات حاصل را با پپتید(47-57)HIV-1 Tat هدفگذاری نمودند و نشان دادند که این ذرات قادرند هم در in-vitro و هم در in-vivo با تولید microRNA از بیان ژن هدف ممانعت کنند(۱۱). این یافته نشان می دهد که ذرات فاژی برای استفاده در رسانش هدفمند ژن های درمانگر از پتانسیل بالایی برخوردار هستند.



شکل شماره ٤. راهکار اتصال ملکول هدفگیری ترانسفرین به سطح ذرات فاژی دارای ترانسژن GFP به منظور تهیه نانو حامل ژنی هدفگذاری شده با ترانسفرین. برای توضیح بیشتر به متن مراجعه شود.(اقتباس از منبع شماره ۹)

خطرات احتمالی VNPs فاژی، الگوی توزیع آن ها درون بدن و روش های مقابله با ایمنی زایی احتمالی آن ها: بررسی و دانستن خطرات احتمالی یکی از مراحل مهم در فرآیند ابداع و ساخت مواد مورد استفاده در پزشکی است. به طور مثال سمیت و تحریک سیستم ایمنی بزرگ ترین مانع در استفاده از ویروس های حیوانی به ویژه آدنوویروس ها در فرآیندهای ژن درمانی در انسان بوده است(۷۳-۷۱). با توجه به این که باکتریوفاژها قادر به عفونت سلول های حیوانی به ویژه انسانی نیستند و به طور طبیعی در آب، خاک، هوا و نیز بدن انسان حضور دارند و لذا سیستم ایمنی نسبت به آن ها تا حدی سازگاری یافته است گمان می رود که در مقایسه با ویروس های حیوانی بسیار کم خطر باشند(۷۴). البته مطالعات in-vivo با استفاده از باکتریوفاژهای M13 و QB و نیز برخی ویروس های گیاهی گواه بی خطری آن ها است(۷۵)، با این وجود چنین مطالعاتی نشان داده اند که باکتریوفاژهای M13 و QB پس از مصرف سیستمی ابتدا در کبد و طحال جمع می شوند(۷۷،۷۶). هم چنین Shukla S و همکاران اخیراً فراهمی زیستی و کلیرانس VNPs مشتق از ذرات ویروس Xسیب زمینی را در موش های سالم و توموری مطالعه کردند و دریافتند که ۳۰ درصد ذرات در بافت های توموری و مابقی در کبد و طحال جای دارند و به تدریج توسط کلیه ها و صفرا دفع می شوند(۷۸). این رفتار عادی است زیرا این ارگان ها جزء سیستم رتیکلواندوتلیال هستند و در دفع و خنثی سازی آنتی ژن ها از جریان خون دخالت دارند(۷۷،۷۶). یکی دیگر از فاکتورهای مهم، رفتار فارماکوکینتیکی VNPs های بر پایه فاژ است. ویژگی های فارماکوکنتیکی نانوذرات به ترکیب نانوذره و به عبارتی بار سطحی آن بستگی دارد(۷۹)، و این ویژگی در مورد VNPs نیز صادق است. بررسی ها نشان داده اند نانوذراتی که دارای بار سطحی مثبت هستند در مقایسه با آن هایی که دارای بار سطحی منفی هستند نیمه عمر طولانی تری در جریان خون دارند. به عنوان مثال نانوذرات مشتق از فاژ QB که دارای بار سطحی مثبت هستند نیم عمری بیش از ۳ ساعت در جریان خون دارند در صورتی که نانوذرات مشتق از ویروس های گیاهی از قبیل ویروس موزائیک لوبیای چشم بلبلی(CPMV) و یا ویروس لکه های بی رنگ لوبیای چشم بلبلی(CCMV) که بار سطحی آن ها منفی است نیم عمری کمتر از ۱۵ دقیقه دارند(۸۰،۷۵). نیم عمر بالا در جریان خون به تجمع نانوذرات در بافت هدف منجر می شود که این ویژگی برای اهداف انتقال دارو یا ژن مناسب می باشد.

مزیت دیگری که نانوذرات بر پایه فاژ دارند به خاطر پوشش پروتئینی آن ها و حضور گروه های فعال کربوکسیل و آمین در انتهای زنجیره فرعی اسیدآمینه های اسیدی و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

بازی است. می توان با روش های شیمیایی مختلف، با اتصال موادی از قبیل پلی اتیلن گلیکول(PEG) یا گروه استیل، بار سطحی این نانوذرات را تغییر و تعدیل کرد(۷۷،۷۶). با این که سیستم ایمنی بدن تا حدی نسبت به باکتریوفاژها سازگاری پیدا کرده است(۷۴)، اما برای از بین بردن احتمال تحریک سیستم ایمنی می توان نانوذرات فاژی را با اتصال PEG از دسترس سلول های ایمنی دور نگه داشت و بدین ترتیب ضریب بی خطری آن ها را تا حد زیادی افزایش داد. در این راستا پگیله کردن برخی از ویروس های گیاهی از قبیل ویروس موزائیک لوبیای چشم بلبلی(CPMV)(۸۰)، ویروس سیب زمینی X (PVX)(۸۱)، ویروس موزائیک تنباکو(TMV)(۸۲)، و نیز باکتریوفاژ MS2(۸۳)، گزارش شده است. تاثیر پگیله کردن روی ویروس موزائیک لوبیای چشم بلبلی به خوبی مطالعه شده است. این مطالعات نه تنها کاهش برهمکنش این ویروس را هم در in-vitro و هم in-vivo تایید کردند(۸۶-۸۴،۲۹)، بلکه نشان دادند که پگیله کردن به طور موثری ایجاد پاسخ ایمنی اولیه را سرکوب می کند(۸۶).

نتیجه گیری

باکتریوفاژها زیرگروهی از نانوذرات ویروسی(VNPs) هستند که به دلیل برخورداری از یک سری مزایا از قبیل ارزانی، سهولت تولید، امکان دستکاری ژنتیکی و شیمیایی آسان و وسیع، پایداری در شرایط سخت، سهولت هدفگذاری، حفاظت از ترانسژن به واسطه پوشش پروتئینی و مهم تر از همه بی خطری و سازگار بودن با سیستم ایمنی انسان حامل های جذابی برای انتقال هدفمند دارو، فلوروفورها جهت تصویربرداری با وضوح بالا و انتقال ژن جهت ژن درمانی هستند. وجود و سهولت استفاده از فناوری های مختلف مثل فاژنمایی و اتصال شیمیایی ملکول های هدفگیری، امیدواری های زیادی برای آشکارسازی و درمان هدفمند اختلالاتی از قبیل سرطان ایجاد کرده است. پژوهش های زیادی جهت بهینه سازی کاربرد آن ها در حال انجام است و انتظار می رود در آینده نزدیک وارد کارآزمایی های بالینی شوند.

References

1.Steinmetz NF. Viral nanoparticles as platforms for next generation therapeutics and imaging devices. Nanomedicine 2010; 6:634-41.

2. Majoros IJ, Williams CR, Baker JR. Current dendrimer applications in cancer diagnosis and therapy. Curr Top Med Chem 2008; 8:1165-79.

3. Manchester M, Singh P. Virus based nanoparticles (VNPs) platform technologies for diagnostic imaging. Adv Drug Deliv Rev 2006; 58:1505-22.

4. Soussan E, Cassel S, Blanzat M, Ricolattes I. Drug delivery by softmatter matrix and vesicular carriers. Angew Chem Int Ed Eng 2009; 48:274-88.

5. Xing Y, Rao J. Quantum dot bioconjugates for in vitro diagnostics and in vivo imaging. Cancer Biomark 2008; 4: 307-19.

6. Pokorski JK, Steinmetz NF. The art of engineering viral nanoparticles. Mol Pharm 2011; 8:29-43.

7. Padeganeh A, Khalajkondori M, Bakhshinejad B, Sadeghizadeh M. Non viral vehiclesprinciples, applications, and challenges in gene delivery. 1th ed. New York: In Tech Publication; 2011.P. 21-34.

8. Yildiz I, Shukla S, Steinmetz NF. Applications of viral nanoparticles in medicine. Curr Opin Bio technol 2011; 22: 901-8.

9. Khalajkondori M, Sadeghizadeh M, Behmanesh M, Saggio I, Monaci P. Chemical coupling as a potent strategy for preparation of targeted bacteriophage derived gene nanocarriers into eukaryotic cells. J Gene Med 2011; 13:622–31.

10. Bakhshinejad B, Khalajkondori M, Sadeghizadeh M. Employment of phage display technology to construct GFP bearing phage nanoparticles with peptide ligands targeting into intestinal epithelial cells. J Iran Chem Soc 2012; 1:40-5.

11. Urbanelli L, Ronchini C, Fontana L, Menard S, Orlandi R, Monaci P. Targeted gene transduction of mammalian cells expressing the

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

HER2/neu receptor by filamentous phage. J Mol Biol 2001; 313:965-76
12. Sidhu SS. Phage display in pharmaceutical biotechnology. Curr Opin Biotechnol 2000; 11:610–16.
13. Gupta A, Onda M, Pastan I, Adhya S, Chaudhary VK. High density functional display of proteins on bacteriophage lambda. J Mol Biol 2003; 334:241–54.
14. Mccafferty J, Jackson RH, Chiswell DJ. Phage enzymes expression and affinity chromatography of functional alkaline phosphatase on the surface of bacteriophage. Protein Eng 1991; 4:955–61.
15. Ivanenkov VV, Felici F, Menon AG. Targeted delivery of multivalent phage display vectors into mammalian cells. Biochim Biophys Acta 1999; 1448: 463-72.
16. Mount JD, Samoylova TI, Morrison NE, Cox NR, Baker HJ, Petrenko VA. Cell targeted phagemid rescued by preselected landscape phage. Gene 2004; 341:59-65.
17. Khalajkondori M, Sadeghizadeh M, Behmanesh M. Chemical coupling of targeting moiety on phage surface; A distinct approach for transgene delivery into eukaryotic cells. Euro Hum Genet 2010;18 l:364- 69.
18. Khalajkondori M, Sadeghizadeh M, Behmanesh M, Gill P. Phage lambda derived nanobioparticles; a new generation of eukaryotic gene delivery vehicles. Euro Hum Genet 2009; 17 2:361-5.
19. Khalajkondori M, Sadeghizadeh M, Behmanesh M. Designing a phage derived gene nanocarrier and examination of its capacity for delivering and expression of transgene in human cell line. Iran J Biol 2014;26:438-45.
20. Prasuhn DE, Yeh RM, Obenaus A, Manchester M, Finn MG. Viral MRI contrast agents: coordination of Gd by native virions and attachment of Gd complexes by azide alkyne cycloaddition. Chem Commun 2007;1269–71.
21. Strable E, Prasuhn DE, Udit AK, Brown S, Link AJ, Ngo JT, et al. Unnatural amino acid incorporation into virus like particles. Bioconjugate Chem 2008; 19:866–75.
22. Steinmetz NF, Hong V, Spoerke ED, Lu P, Breitenkamp K, Finn MG, et al. Buckyballs meet viral nanoparticles candidates for biomedicine. J Am Chem Soc 2009; 131:17093–5.
23. Hong V, Presolski SI, Ma C, Finn MG. Analysis and optimization of copper catalyzed azide alkyne cycloaddition for bioconjugation. Anqew Chem Int Ed 2009; 48:9879–83.
24. Stephanopoulos N, Carrico ZM, Francis MB. Nanoscale integration of sensitizing chromophores and porphyrins with bacteriophage MS2. Anqew Chem Int Ed 2009; 48:9498–502.
25. Carrico ZM, Romanini DW, Mehl RA, Francis MB. Oxidative coupling of peptides to a virus capsid containing unnatural amino acids. Chem Commun 2008;1205–7.
26.Tong GJ, Hsiao SC, Carrico ZM, Francis MB. Viral capsid DNA aptamer conjugates as multivalent cell targeting vehicles. J Am Chem Soc 2009; 131:11174–8.
27. Wen AM, Lee KL, Yildiz I, Bruckman MA, Shukla S, Steinmetz NF. Viral nanoparticles for in vivo tumor imaging. J Vis Exp 2012; 69:e4352.
28. Cho CF, Shukla S, Simpson EJ, Steinmetz NF, Luyt LG, Lewis JD. Molecular targeted viral nanoparticles as tools for imaging cancer. Methods Mol Biol 2014 ;1108:211-30.
29. Lewis JD, Destito G, Zijlstra A, Gonzalez MJ, Quigley JP, Manchester M, et al. Viral nanoparticles as tools for intravital vascular imaging. Nat Med 2006; 12: 354-60.
30. Campa MJ, Serlin SB, Patz EF Jr. Development of novel tumor imaging

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

agents with phage display combinatorial peptide libraries. Acad Radiol 2002; 8:927-32
31. Rusckowski M, Gupta S, Liu G, Dou S, Hnatowich DJ. Investigations of a (99m)Tc labeled bacteriophage as a potential infection specific imaging agent. J Nucl Med 2004; 7:1201-8.
32. Rusckowski M, Gupta S, Liu G, Dou S, Hnatowich DJ. Investigation of four (99m)Tc labeled bacteriophages for infection-specific imaging. J Nucl Med Biol 2008; 4:433-40.
33. Newton JR, Figueroa SD, Quinn TP, Deutscher SL. Bifunctional phage based pretargeted imaging of human prostate carcinoma. J Nucl Med Biol 2009; 7: 789-800.
34. Deutscher SL. Phage display in molecular imaging and diagnosis of cancer. Chem Rev2010; 110:3196-211.
35. Kelly KA, Waterman P, Weissleder R. Invivo Imaging of molecularly targeted phage. Neoplasia 2006; 12: 1011-8.
36. Ghosh D, Kohli AG, Moser F, Endy D, Belcher AM. Refactored M13 bacteriophage as a platform for tumor cell imaging and drug delivery. ACS Synth Biol 2012; 12:576-82.
37. Petrenko VA, Jayanna PK. Phage protein targeted cancer nanomedicines. FEBS Lett 2014;588:341-9.
38- Arap W, Pasqualini R, Ruoslahti E. Cancer treatment by targeted drug delivery to tumor vasculature in a mouse model. Science 1998; 279: 377-80.
39. Arap W, Haedicke W, Bernasconi M, Kain R, Rajotte D, Krajewski S, et al. Targeting the prostate for destruction through a vascular address. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 1527-31.
40. Ellerby HM, Arap W, Ellerby LM, Kain R, Andrusiak R, Rio GD, et al. Anti cancer activity of targeted proapoptotic peptides. Nat Med 1999; 5:1032-38.
41. Curnis F, Sacchi A, Borgna L, Magni F, Gasparri A, Corti A. Enhancement of tumor necrosis factor alpha antitumor immunotherapeutic properties by targeted delivery to aminopeptidase N (CD13). Nat Biotechnol 2000; 18:1185-90.
42. Wu W, Hsiao SC, Carrico ZM, Francis MB. Genome free viral capsids as multivalent carriers for taxol delivery. Anqew Chem Int Ed 2009; 48:9493–97.
43.Tong GJ, Hsiao SC, Carrico ZM, Francis MB. Viral capsid DNA aptamer conjugates as multivalent cell targeting vehicles. J Am Chem Soc 2009; 131:11174–78.
44. Aljabali AA, Shukla S, Lomonossoff GP, Steinmetz NF, Evans DJ. CPMV-DOX delivers. Mol Pharm 2013; 10:3-10.
45. Bar H, Yacoby I, Benhar I. Killing cancer cells by targeted drug carrying phage nanomedicines. BMC Biotechnol 2008; 8: 37.
46. Brown WL, Mastico RA, Wu M, Heal KG, Adams CJ, Murray JB, et al. RNA bacteriophage capsid mediated drug delivery and epitope presentation. Intervirology 2002; 45:371-80.
47. Glasgow JE, Capehart SL, Francis MB, Tullman Ercek D. Osmolyte mediated encapsulation of proteins inside MS2 viral capsids. ACS Nano 2012; 6:8658-64.
48. Pan Y, Zhang Y, Jia T, Zhang K, Li J, Wang L. Development of a microRNA delivery system based on bacteriophage MS2 virus like particles. FEBS J 2012; 279:1198-208.
49. Galaway FA, Stockley PG. MS2 viruslike particles a robust semisynthetic targeted drug delivery platform. Mol Pharm 2013;10:59-68.
50. Brunel FM, Lewis JD, Destito G, Steinmetz NF, Manchester M, Stuhlmann H, Dawson PE. Hydrazone ligation strategy to assemble multifunctional viral nanoparticles for cell imaging and tumor targeting. Nano Lett 2010; 10:1093–97.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

51. Steinmetz NF, Ablack AL, Hickey JL, Ablack J, Manocha B, Mymryk JS, et al. Intravital imaging of human prostate cancer using viral nanoparticles targeted to gastrin releasing Peptide receptors. Small 2011;7:1664-72.
52. Shukla S, Ablack AL, Wen AM, Lee KL, Lewis JD, Steinmetz NF. Increased tumor homing and tissue penetration of the filamentous plant viral nanoparticle Potato virus X. Mol Pharm 2013;10:33-42.
53. Vaks L. Benhar I. Antibacterial application of engineered bacteriophage nanomedicines antibody targeted chloramphenicol prodrug loaded bacteriophages for inhibiting the growth of Staphylococcus aureus bacteria. Methods Mol Biol 2011; 726:187-06.
54. Yacoby I, Bar H, Benhar I. Targeted drug carrying bacteriophage as antibacterial nanomedicines. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51:2156-63.
55. Yacoby I, Shamis M, Bar H, Shabat D, Benhar I. Targeting antibacterial agents by using drug carrying filamentous bacteriophage. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50:2087–97.
56. Yacoby I, Benhar I. Targeted filamentous bacteriophages as therapeutic agents. Expert Opin Drug Deliv 2008; 3:321-9.
57. Yokoyama M, Kato S. Recombinant fl phage particles can transfect monkey COS-7 cells by DEAE dextran method. Biochem Biophys Res Commun 1993; 192:935-9.
58. Okayama H, Berg P. Bacteriophage lambda vector for transducing a cDNA clone library into mammalian cells. Mol Cell Biol 1985; 5:1136-42.
59. Smith GP. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. Sci 1985; 228:1315-17.
60. Larocca D, Witte A, Johnson W, Pierce GF, Baird A. Targeting bacteriophage to mammalian cell surface receptors for gene delivery. Hum Gene Ther 1998; 9:2393-99.
61. Poul MA, Marks JD. Targeted gene delivery to mammalian cells by filamentous bacteriophage. J Mol Biol 1999; 288:203-11.
62. Larocca D, Kassner PD, Witte A, Ladner RC, Pierce GF, Baird A. Gene transfer to mammalian cells using genetically targeted filamentous bacteriophage. FASEB J 1999; 13:727-34.
63. Digiovine M, Salone B, Martina Y, Amati V, Zambruno G, Cundari E, et al. Binding properties cell delivery and gene transfer of adenoviral penton base displaying bacteriophage. Virology 2001; 282:102-12.
64. Eguchi A, AkutaT, Okuyama H, SendaT, Yokoi H, Inokuchi H, et al. Protein transduction domain of HIV-1 Tat protein promotes efficient delivery of DNA into mammalian cells. J Biol Chem 2001; 276: 204–10.
65. Piersanti S, Cherubini G, Martina Y, Salone B, Avitabile D, Grosso F, et al. Mammalian cell transduction and internalization properties of lambda phage displaying the full length adenoviral penton base or its central domain. J Mol Med 2004; 82:467–76.
66. Li Z, Zhang J, Zhao R, Xu Y, Gu J. Preparation of peptide targeted phagemid particles using a protein III-modified helper phage. Biotechniques 2005; 39:493-97.
67. Zanghi CN, Lankes HA, Bradeltretheway B, Wegman J, Dewhurst SA. simple method for displaying recalcitrant proteins on the surface of bacteriophage lambda. Nucleic Acids Res 2005; 33: 160-8.
68. Zanghi CN, Sapinoro R, Bradel-Tretheway B, Dewhurst SA. tractable method for simultaneous modifications to the head and tail of bacteriophage lambda and its application to enhancing phage mediated gene delivery. Nucleic Acids Res 2007; 35: 59-66.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

69. Volcy K, Dewhurst SA. Proteasome inhibitors enhance bacteriophage lambda mediated gene transfer in mammalian cells. Viro 2009; 384: 77-87.
70. Kassner PD, Burg MA, Baird A, Larocca D. Genetic selection of phage engineered for receptor mediated gene transfer to mammalian cells. Biochem Biophys Res Commun 1999; 264:921-8.
71. Bengary H, McKinney RL, Rosengart T, Lesser ML, Crystal RG. Systemic interleukin-6 responses following administration of adenovirus gene transfer vectors to humans by different routes. Mol Ther 2002; 6: 287-97.
72. Cotter MJ, Muruve DA. The induction of inflammation by adenovirus vectors used for gene therapy. Front Bio sci 2005;10:1098-105.
73. Engler H, Machemer T, Philopena J, Wen SF, Quijano E, Ramachandra M, et al. Acute hepatotoxicity of oncolytic adenoviruses in mouse models is associated with expression of wild type E1a and induction of TNF-α. Virology 2004; 328: 52-61.
74. Kutter E, Sulakvelidze A. Bacteriophages: Biology and Applications. Bocaraton Pablication ; 2005.P.122-8.
75. Kovacs EW, Hooker JM, Romanini DW, Holder PG, Berry KE, Francis MB. Dual surface modified bacteriophage MS2 as an ideal scaffold for a viral capsid based drug delivery system. Bioconjug Chem 2007; 18: 1140-7.
76. Molenaar TJ, Michon I, de Haas SA, van Berkel TJ, Kuiper J, Biessen EA. Uptake and processing of modified bacteriophage M13 in mice: implications for phage display. Virology 2002; 293:182-91.
77. Prasuhn DE, Singh P, Strable E, Brown S, Manchester M, Finn MG. Plasma clearance of bacteriophage Qβ particles as a function of surface charge. J Am Chem Soc 2008; 130:1328-34.
78. Shukla S, Wen AM, Ayat NR, Commandeur U, Gopalkrishnan R, Broome AM, Lozada KW, Keri RA, Steinmetz NF. Biodistribution and clearance of a filamentous plant virus in healthy and tumor bearing mice. Nanomedicine 2014;9:221-35.
79. Li SD, Huang L. Pharmacokinetics and biodistribution of nanoparticles. Mol Pharm 2008; 5:496-04.
80. Singh P, Prasuhn D, Yeh RM, Destito G, Rae CS, Osborn K, et al. Biodistribution, toxicity and pathology of cowpea mosaic virus nanoparticles in vivo. J Control Release 2007; 120:41-50.
81. Steinmetz NF, Mertens ME, Taurog RE, Johnson JE, Commandeur U, Fischer R, et al. Potato virus X as a novel platform for potential biomedical applications. Nano Lett 2010; 10:305-12.
82. Bruckman MA, Kaur G, Lee LA, Xie F, Sepulveda J, Breitenkamp R, et al. Surface modification of tobacco mosaic virus with click chemistry. Chem Biol Chem 2008; 9:519-23.
83. Kovacs EW, Hooker JM, Romanini DW, Holder PG, Berry KE, Francis MB. Dual surface modified bacteriophage MS2 as an ideal scaffold for a viral capsid based drug delivery system. Bioconjug Chem 2007; 18: 1140-7.
84. Destito G, Yeh R. Folic acid mediated targeting of cowpea mosaic virus particles to tumor cells. Chem Biol 2007; 14:1152-62.
85. Steinmetz NF, Manchester M. Pegylated viral nanoparticles for biomedicine: the impact of PEG chain length on VNP cell interactions invitro and exvivo. Biol Macro 2009; 10:784-92.
86. Raja KS. Hybrid virus polymer materials. Synthesis and properties of PEG decorated cowpea mosaic virus. Biol Macro 2003; 3: 472-6.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]

Potential applications of bacteriophages in medicine: medical imaging, targeted drug and gene delivery

Khalajkondori M[1*]

(Received: January 24, 2014 Accepted: June 10, 2014)

Abstract

Despite the progresses achieved in the treatment, detection and development of effective drugs for curing of diseases e.g. cancer, using of such therapeutics by patients is associated with severe side-effects. Since, most of them are not specific for cancerous cells; they may affect normal cells as well. So, targeted delivery of therapeutics is very important. Bacteriophages are a subtype of viral nanoparticles (VNPs) which can potentially deliver therapeutics to target cells/tissues**,** and this aspect of bacteriophage application has recently been considered by researchers. Plenty of studies show that not only bacteriophages have capacity for targeted delivering of imaging agents, drugs and genes into the cells/tissues but have appropriate profile of distribution in tissues and clearance from blood stream as well. Moreover, images obtained from different radioactive and optic imaging approaches have high-resolution in methods using bacteriophage because of their depth penetration into the tissues. Furthermore, bacteriophage-based approaches have more advantages such as safety and low cost. Regarding the plenty of advantages, it is expected that bacteriophages might be used as a suitable tool in diverse clinical trials in the near future. In the present study, the potential applications of bacteriophages are considered in medical imaging, targeted drug and gene delivery.

Keywords: Phage Nanodrug, Phage targeting, Targeted Drug and Gene Delivery, Medical Imaging.

1. Dept. of Animal biology Group, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
** Correspondin author Email: khalaj@tabrizu.ac.ir*

Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-05-04]