ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

تقویت تولید لیپید با استفاده از روشهای طراحی عوامل بیوشیمیایی و ژنتیکی و همانندسازی

چکیده:

این مقاله سه روش احتمالی برای تقویت تولید بیش از حد لیپید در microalgae صورت می‌گیرد. روشهای مهندسی، رویکردهای مهندسی بیوشیمیایی (GE) در رویکردهای مهندسی (طراحی) فاکتور همانندسازی (TFE) از موارد آن می‌باشد. روش BE بر مبنای ایجاد یک تنش بیولوژیکی مثل محرومیت از مواد غذایی یا شوری زیاد یا جریان متابولیک کانال برای تجمع لیپیدی می‌باشد. آنزیم‌های محدود کننده سرعت (مقدار) تا یک کانال متابولیکی برای بیوسنتز لیپید بوسیله بروز بیش از حد یک یا چند آنزیم اصلی در نژادهای microalgal ترکیب مجدد ایجاد کند.

روش TEEیک روش در حال ظهور است که هدف آن تقویت تولید متابولیت ویژه‌ای بوسیله بروز بیش از حد TFS است. مسیر متابولیک در تجمع متابولیت‌های هدف را امکان‌پذیر می‌کند. اخیرا روش‌های BE ثابت شده‌ترین روش‌ها در تولید لیپید microalgal می‌باشند. TFE یک روش خیلی قابل قبول است چون از اثرات بازدارنده روش‌های BE و محدود کردن موانع ثانویه که در روشهای GE مشاهده می‌شود جلوگیری می‌کند. به هر حال هنوز مفهوم جدیدی است که نیاز به ارزیابی سیستماتیکی دارد.

1- مقدمه:

بیودیزل یکی از تضمین شده‌ترین سوخت‌های تجدیدپذیر حمل و نقلی است که موفقیت زیادی سرتاسر دنیا بدست آورده است. طبق گزارش بانک جهانی (2008)، 6/5 میلیارد لیتر بیودیزل در سال 2006 سرتاسر دنیا تولید شده است و 75٪ آن توسط اتحادیه اروپا و 13٪ آن توسط امریکا بوده است. مشارکت کنونی بیودیزل در تولید سوخت حمل و نقل جهانی فقط 0/14 درصد است و روش‌های مطلوبی از کشورهای اصلی دنیا انتظار می‌رود که این مشارکت را تا سال 2020 تا 5 برابر افزایش دهند بنابراین پیش‌بینی می‌شود که تقاضای گسترده جهانی درباره انرژی تجدیدشونده به رشد سریع خود با این وجود افزایش قیمت غذا سرتاسر دنیا، آگاهی عمومی و نگرانی‌هایی درباره رقابت برای منابع کشاورزی بین صنعت غذا و بخش انرژی را افزایش داده است. توسعه و راه

حل‌های پایدار و مقرون به صرفه برای محصولات جنگلی و کشاورزی سنتی برای نیاز ضروی برای تولید پایه از زیست سوخت می‌باشد. میکروجلبک های سرشار از چربی منبع خوبی از لیپیدها برای تولید بیودیزل می‌باشند.

به نظر می‌رسد که شک اندکی وجود دارد که میکروجلبک‌های در حال رشد سریع بتوانند زیست سوخت‌های مجدد پذیر کافی برای جایگزین کردن سوخت‌های فسیلی حمل و نقلی ارائه کند. یک روش یکپارچه برای تقویت مقرون به صرفه بودن اقتصادی و پایداری محیطی آن با ترکیب مزیت‌های تولید زیست سوخت و کاهش CO2 و مزیت حرارتی ضایعات (زباله) و بازیافت فاضلاب و تولید زیستی جدید با استفاده از فرآیندهای کشت میکروجلبک صورت گرفته است. با این وجود چالش‌های قابل توجهی در مورد مسائل اقتصادی تولید بیودیزل میکروجلبک وجود دارد و بررسی‌های زیادی برای غلبه بر این چالش‌های صورت گرفته است و دیدگاه آبی تولید بیش از حد لیپید با استفاده از میکروجلبک با روش‌های مختلفی صورت گرفته که شامل روش‌های BE و GE و TFE می‌باشد.

2- روشهای مهندسی بیوشیمی:

روش BE به روشی از تقویت تولید میکروجلبک با کنترل مو شرایط غذایی و کشت (مثل دما و PH و شوری) اشاره دارد تا مسیری به سوی جریان متابولیک تولید شده در فتوسنتز در بیوسنتز لیپید ارائه کند. محرومیت از مواد غذایی متداولترین روش بکار رفته برای هدایت جریان متابولیک به بیوسنتز لیپید میکروجلبک می‌باشد. از این نظر، میکروجلبک دما لیپیدها را به عنوان ابزاری برای ذخیره تحت شرایط محدودیت مواد غذایی وقتی که منبع انرژی (یعنی نور) و منبع کربن (یعنی CO2) به وفور در دسترس باشد و زمانی که مکانیسم‌های سلولی برای فتوسنتز فعال باشد تجمع می‌دهند. در حالی که تعدادی از مواد غذایی مثل فسفر و کمبود آهن به گزارش شده که باعث توقف رشد سلولی می‌شود و جریان کانال متابولیک به بیوسنتز اسید چرب لیپید می‌رسد و نیتروژن تعداد کمترین عامل محدودکننده تحریک تجمع لیپید در میکروجلبک می‌باشد.

محرومیت از نیتروژن هم باعث یک تجمع لیپید در تعدادی از گونه‌های میکروجلبک می‌شود. برای مثال Chlorella معمولا نشاسته را به عنوان ماده سنج تجمع می‌دهد. به هر حال IIImax گزارش کرده که C.emersoni، C.minvolsion و C.vulgaris و C.pyrenodase می‌توانند لیپیدهای تا 64 و 57 و 40 و 23٪ مبنای وزن خشک سلول خود را در محیط کم نیتروژن تجمع دهند. oleaburis Nechloris تحت

شرایط کمبود نیتروژن گزارش شده که قادر است 54-35٪ لیپیدهای وزن خشک سلول را تجمع دهد و TAGs آن دارای 80٪ مجموع لیپیدها می‌باشد. مشاهده شده که TAGS در سلولهای Nannochlorissp تجمع می‌یابد که می‌تواند 2/2 برابر در سلول‌ها در کشت‌های دارای نیتروژن کافی باشد. بررسی‌های ما نشان داد که نیترات سدیم، مطلوبترین منبع نیتروژن برای رشد سلول و تولید N.ateabandans بین سه ترکیب بررسی شده دارای نیتروژن یعنی نیترات سدیم و اوره و بیوکربنات آمونیوم می‌باشد. مشاهده شده که با افزایش نیترات سدیم در محیط در محدوده 3-20nm محتوای سلول لیپید کاهش می‌یابد. این روند که تجمع منبع نیتروژن کمتر در محیط باعث محتوای سلول لیپید بیشتر می‌شود به طور فرضی با توجه به این حقیقت قابل توضیح است که وقتی که غلظت منبع نیتروژن اولیه محیط کم باشد، نیتروژن در چگالی کم سلول اولیه خارج می‌شود. در نتیجه وقتی که نور نفوذ خوبی دارد (تراکم سلولی کم است) تجمع لیپید در سلول شروع می‌شود و وقتی که سلول‌های جدا در معرض مقادیر زیادی انرژی نور باشند باعث جریان متابولیک می‌شود از فسفر سنتز ایجاد شده و باعث تجمع لیپید در یک مبنایی زشت توده می‌شود.

محدودیت فسفات هم باعث تقویت تجمع لیپیدی Monodussobterranevs می‌شود. با کاهش دسترسی فسفات از 175 و 52/5، و 17/5 و 0Mm (K2HPO4) مجموع محتوای لیپیدی سلول‌های محروم شده افزایش می‌یابد که بویژه به افزایش قابل توجه در سطوح TAG ارتباط می‌یابد. در غیاب فسفات، نسبت فسفر لیپید از 8/3٪ تا 1/4٪ کل لیپید کاهش می‌یابد و نسبت TAG از 6/5٪ تا 39/4٪کل لیپید افزایش می‌یابد. به علاوه کمبود یون هم گزارش شده که تجمع لیپید در میکروجلبک Cllorells vulgaris را تقویت می‌کند که تا 56/5٪ لیپید زیست توده با وزن خشک تحت شرایط بهینه ($1/2\times10^{-5}$mol fecu3) تجمع می‌یابد. علاوه بر محرومیت موادغذایی شرایط تنش دیگری هم باعث تقویت تجمع لیپیدها در میکروجلبک می‌شود. برای مثال Takagi مشاهده کرد که محتوای TAG در Donaliclla که یک جلبک دریایی است تحت شرایط شوری زیاد افزایش می‌یابد. شرایط در تحقیق نشان می‌دهد که یک غلظت Nacl اولیه بالاتر از 1/5m مانع رشد سلولی می‌شود. به هر حال وقتی غلظت Nacl اولیه از 0/5 به 1m افزایش یابد باعث افزایش محتوای لیپید بین سلولی 0/5m می‌شود. افزودن 0/5 تا 1Naclm در فاز mid-kg یا انتهای فاز log طی بقرداشت غلظت Nacl اولیه 1M و غلظت محتوای لیپیدی 70٪ است.

یک عیب روش BE محرومیت از مواد غذایی یا تنش فیزیولوژیکی است که برای تجمع محتوای لیپید زیاد در سلول‌ها با توجه به کاهش تقسیم سلولی موردنیاز است چون لیپیدها محصولات بین سلولی می‌باشند. تولید لیپید به طور کلی، محصول محتوای لیپید سلولی ضرب در تکثیر زیست توده می‌باشد. تولید کلی لیپید/ انرژی بنابراین با توجه به کاهش تولید زیست توده تحت تأثیر قرار می‌گیرد. برای مثال Seragg هم بازیافت انرژی C.vvlgaris و C.emersonii را که در محیط Watanbe و محیط کم نیتروژن رشد کرده بود بررسی کرد. نتایج نشان داد که محیط کم نیتروژن اگر چه تجمع لیپید زیادی در جلبک دارای سلوح کالری زیاد را القا می‌کرد و بازیابی کل انرژی هم در محیط کم نیتروژن بهتر از محیط watanab بود. بررسی‌ها نشان داد که در محدوده بررسی شده نیترات سدیم 3-20nm، اگر چه بالاترین محتوای لیپید سلولی 40٪ در کمترین غلظت نیترات سدیم 3mM بدست آمد، ماکسیمم تولید لیپید در 5mm بدست آمد.

یک برآورد متداول استفاده از روش کشت دو مرحله‌ای می‌باشد که مرحله اول برای رشد / تقسیم سلول در محیط دارای مواد غذایی کافی می‌باشد و مرحله دوم برای تجمع لیپید تحت شرایط کمبود موادغذایی با تنش های فیزیولوژیکی دیگر می‌باشد. در واقع یک محیط خوب فرمول‌بندی شده مثل محیطی که گروه ما در بررسی قبلی ارائه کردند تولید لیپید دو مرحله‌ای ایجاد می‌کند که سلول‌ها به طور طبیعی قادرند تا قبل از تخلیه زیر لایه محدود (که در این مورد نیتروژن است) به سرعت رشد کنند و سپس به تجمع لیپید تحت شرایط محرومیت از نیتروژن تغییر می‌کند. به علاوه یک فتوبیوالکتوریالیسم کشت میکروجلبک پیوند آزاد نشان داده که به طور بالقوه برای راه حل مهندسی متناسب است که متناسب روش دو مرحله‌ای با فتوبیوالکترواست که به ماده تلقیحی سرشار از مواد غذایی که ساخته شده و پیوندهای آن دو با تجمع لیپید کم چربی اختصاص می‌یابد. قابل ذکر است که بکارگیری محیط که دارای موادغذایی کم در پیوندهای آزاد برای تجمع لیپید کنترل آلودگی مناسب نیست اما دوستدار محیط است.

با این وجود کمبود این موادغذایی می‌تواند فتوسنتز سلول‌های میکروجلبک را به روشی کاهش دهد که باعث کاهش کلی تولید لیپید می‌شود. بسیاری از منابع محدود که به طور متداول به کار رفته موارد ضروری فتوسنتز میکروجلبک وجود دارد و کاهش آن جریان متابولیک برای تولید لیپید ایجاد می‌کند. برای مثال در بررسی ما مشاهده شده که میکروفیل رنگدانه ضروری دستیابی به نور در بیوسنتز جلبک سبز N.oleoabrndais

می‌باشد. در زمانی که نیتروژن از محیط خارج می‌شود برای رشد سلول کاربرد دارد که باعث کاهش شدید محتوای سلول کلروفیل می‌گردد. فتوسنتز هم به مقدار پروتئین زیادی نیاز دارد و پروتئین‌ها با ریبوزوم‌های سرشار از فسفر سنتز می‌شوند. در نتیجه تغییر جریان متابولیک به بیوسنتز لیپید بوسیله محرومیت از فسفات، تأثیر جدی بر فتوسنتز دارد.

ظاهرا مشکلی در روش BE وجود دارد یعنی دلیل اصطکاک تجمع لیپید در سلول‌ها را تحریک می‌کند باعث کاهش رشد سلولی شدید و فتوسنتز و در نتیجه کاهش کلی تولید لیپید می‌شود. این مشکل احتمالا با بکارگیری روشهای مهندسی متابولیک با هدف تقویت جریان متابولیک در بیوسنتز سیر امکان‌پذیر است بدون آن که تنش‌های فیزیولوژیکی بیان شده را بکار بریم.

3- روشهای مهندسی ژنتیک:

اگرچه روش‌های بیوتکنولوژی بر اساس میکروجلبک تغییر ژنی پاسخی از میکروجلبک و کارخانه‌های سبز سلولی برای تولید متابولیت‌های ارزش افزوده و پروتئین‌های غیریکدست برای کاربرد دارویی را نشان می‌دهد، کاربرد تجاری تغییر نژاد جلبک ابزار تولید خوبی برای ملکول‌های تجاری در آینده نزدیک می‌سازد. علایق روزافزون در استفاده از میکروجلبک تغییر ژن یافته برای کاربرد صنعتی با توسعه سریعی در بیوتکنولوژی میکروجلبک همراه است. توالی‌های ژنوم کامل از جلبک قرمز merolae Cyanidioschyzon و دیاتوم‌های thalassiosiapseudonanaو phaeodacylomtricornotm و جلبک سبز تک سلولی Ostreococustaroi کامل شده است. تبدیل هسته‌ای گونه‌های میکروجلبک مختلف اکنون متداول است و انتقال کلروپلاست هم برای جلبک سبز و قرمز و اوگلنوئیدی صورت گرفته و موفقیت بیشتر تبدیل اندام آن هم در نتیجه تعدادی پلاستیدهای توالی آن می‌باشد. سیستم‌های مختلف تغییر ژنتیکی در جلبک سبز مثل chlamyNomonasreihardi و NolvanCarteri ایجاد شده است. پیشرفت سریعی در بیوتکنولوژی میکروجلبک، جداسازی استفاده از ژن‌های اصلی برای اصلاح ژنتیکی را امکان‌پذیر ساخته است. مورد متداول آن استیل کوآکربوکسیلاز (ACC، است که ابتدا از میکروجلبک سیکلوئید کریپتیکا در سال 1990 توسط Roesster جدا شد و سپس Dunahay به طور موفقی آن را به دیاتوم‌های C.cryptica و MariculaSaprophila تبدیل کرد. ژن ACC به نام acc1 با فعالیت آنزیمی بروز زیادی یافت و به 3-2 برابر

افزایش یافت. این آزمایشات نشان داد که ACC می‌تواند به طور مؤثری به میکروجلبک تبدیل شود اگر چه افزایش قابل توجهی در تجمع لیپیدی در دیاتوم‌های تغییر ژنی مشاهده شد، آن نشان می‌دهد که بروز بیش از حد آنزیم ACC به تنهایی برای تقویت کل مسیر بیوسنتز لیپیدی کافی نمی‌باشد.

حتی اگر هیچ موفقیتی با توجه به تولید بیش از حد لیپیدی میکروجلبک با استفاده از روش GE تاکنون وجود نداشته باشد، درک خوبی برای مسیر بیوسنتز TAG کلی که به طور کلی سرتاسر موقعیت واکنش و ساختار برخی آنزیم‌های اصلی وجود داشته باشد اثبات شده است. بررسی‌های گسترده‌ای هم با در نظر گرفتن تقویت تولید لیپید با استفاده از روش GE در گونه‌های مختلف صورت گرفته است. این نتایج دانش باارزش برای بررسی‌های بیشتر میکروجلبک را فراهم می‌شکند.

1-3- یک بازنگری مسیر بیوسنتز لیپید به طول کل:

مسیر سنتز کلی TAG در سلول‌ها شامل سه مرحله اصلی است:

1- کربوکسیلاسیون استیل کوآتا مالونیل کوآرا بسازد که مرحله اصلی بیوسنتز اسید چرب می‌باشد.

2- طویل شدن زنجیره اسیل می‌باشد.

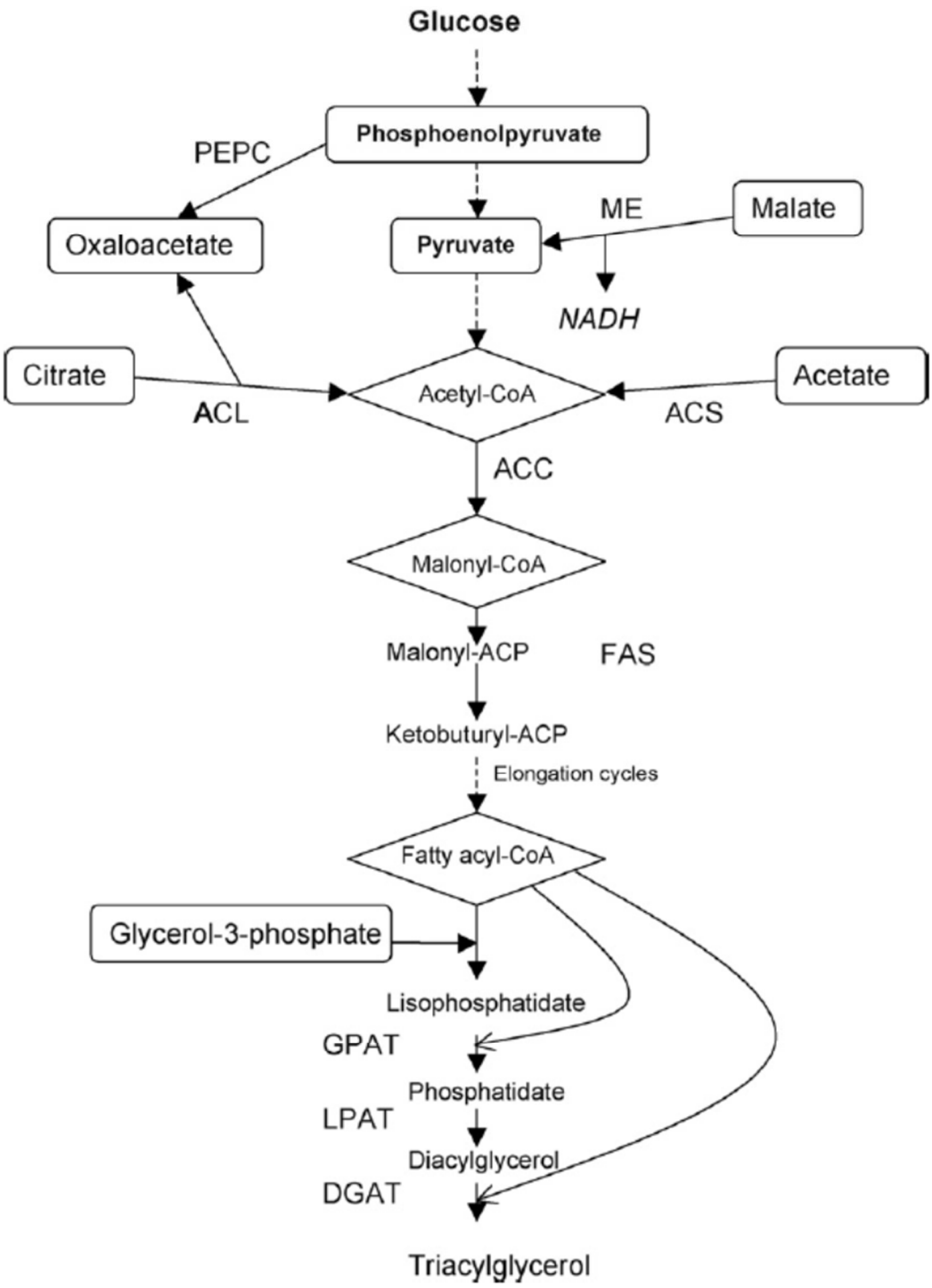
3- تشکیل TAG می‌باشد. آنزیم‌هایی که در هر مرحله مسیر و نقش دارند و عملکرد آن‌ها به اختصار در زیر بیان شده است.

1-1-3- مرحله‌ی بکارگیری:

بیوسنتز لیپید با کربوکسیلاز استیل COA (ACC) شروع می‌شود که مرحله بکارگیری مهم مسیر سنتز اسیدچرب را کاتالیز می‌کند. کربوکسیلاز وابسته به بیوتین استیل کوآنزیم که کوآنزیم مالوبینرا می‌سازد. در Escherich coli ، Acc پروتئینی است که حاوی 4 زیر واحد است که با ژن‌های accA و accB و allC و allD بیان می‌شود و در موقعیت‌های مختلف کروموزوم قرار گرفته است. آن آنترمی سه کاربردی با یک پروتئین حامل کربوکسیل بیوتین و یک زیرواحد بیوتین کربوکسیلاز است که با هم به یک مجموعه هتروتیمری متصل شده‌است. در عوض سلول‌های یوکاریوتی یک پلی‌پپتید چند دامنه تنها را کدبندی می‌کند که مسئول تمام عملکردهای Acc می‌باشد.

در سلول‌های حیوانی، ACC در سیتوپلاسم قرار گرفته و باید از استیل کوآنزیم سیتوزولی برای تشکیل کوآنزیم مالوتیل و طویل شدن زنجیره اسیل استفاده کند. مخمرها، Aclمیتوکندری و سیتوزولی دارند اما نشان داده شده که قادر است با یک آنزیم میتوکندری بدون عملکرد زنده بماند.

در گیاهان، سنتز اسیدهای چرب تماما از پلاستیدهای بذرهای در حال رشد رخ می‌دهد و ACL از استیل کوآنزیم استفاده می‌کند که در این اندام‌ها وجود دارد. پلاستید ACL ساختار متفاوتی از ACC سیتوزولی دارد. آن آنزیم نوع پروکاریوتی چند واحدی است که انواع یوکاریوتی چند کاربردی است که در سیتوپلاسم قرار گرفته است.


Glucose
Phosphoenolpyruvate
PEPC
Oxaloacetate
Pyruvate
ME
Malate
NADH
Citrate
ACL
Acetyl-CoA
ACS
Acetate
ACC
Malonyl-CoA
Malonyl-ACP
FAS
Ketobuturyl-ACP
Elongation cycles
Fatty acyl-CoA
Glycerol-3-phosphate
Lisophosphatidate
GPAT
Phosphatidate
LPAT
Diacylglycerol
DGAT
Triacylglycerol

شکل1

Gene (enzyme)	Source-species	Receiver-species	Note	Refs
accA, accB, accC, accD, (ACC), tesA (thioesterase I)	*E. coli* (BL21) (bacteria)	*E. coli* (BL21) (bacteria)	6× fatty acid synthesis	Davis et al. (2000)
Acc1 (cytosolic ACC)	*Arabidopsis* (plant)	*Brassica napus* (plant)	1–2× plastid ACC + 6% fatty acid content	Roesler et al. (1997)
Acc1 (ACC)	*Arabidopsis* (plant)	*Solanum tuberosum* (plant)	5× TAG content	Klaus et al. (2004)
Acc1 (ACC)	*Cyclotella cryptica* (alga)	*Cyclotella cryptica* (alga)	2–3× ACC activity, no change in lipid content	Dunahay et al. (1995) and Dunahay et al. (1996)
Acc1 (ACC)	*Cyclotella cryptica* (alga)	*Navicula saprophila* (alga)	2–3× ACC activity, no change in lipid content	Dunahay et al. (1995) and Dunahay et al. (1996)
fabF (KAS II)	*E. coli* (bacteria)	*E. coli* (bacteria)	Toxic (CoA pool from 0.5–40% in malonyl-CoA)	Subrahmanyam and Cronan (1998)
fabH (KAS III)	*E. coli* (bacteria)	*Brassica napus* (plant)	Stress, arrest of the cell growth	Verwoert et al. (1995)
KAS III	*Spinacia oleracea* (plant)	*Nicotiana tabacum* (plant)	16:0 accumulation lower oil content	Dehesh et al. (2001)
KAS III	*Spinacia oleracea* (plant)	*Arabidopsis* (plant)	16:0 accumulation lower oil content	Dehesh et al. (2001)
KAS III	*Spinacia oleracea* (plant)	*Brassica napus* (plant)	16:0 accumulation lower oil content	Dehesh et al. (2001)
LPAT	*Saccharomyces cerevisiae* (yeast)	*Brassica napus* (plant)	6× oil content	Zou et al. (1997)
are1 and are2 (DGAT)	*Arabidopsis thaliana* (plant)	Yeast	3–9× TAG content	Bouvier-Nave et al. (2000)
are1 and are2 (DGAT)	*Arabidopsis thaliana* (plant)	*Nicotiana tabacum* (plant)	7× TAG content	Bouvier-Nave et al. (2000)
DGAT	*Arabidopsis* (plant)	*Arabidopsis* (plant)	+10–70% oil content	Jako et al. (2001)
acs (ACS)	*E. coli* (MG1655) (bacteria)	*E. coli* (MG1655) (bacteria)	9× ACS activity, increased acetate assimilation	Lin et al. (2006)
malEMt and malEMc (ME)	*Mortierella alpina* and *Mucor circinelloides* (fungi)	*Mucor circinelloides* (fungi)	2.5× lipid accumulation	Zhang et al. (2007)
ACL	Rat	Tobacco	+16% lipid content	Rangasamy and Ratledge (2000)
Antisens PEP gene	*Agrobacterium tumefaciens*	*Brassica napus*	+6.4–18% oil content	Chen et al. (1999)

جدول 1

2-1-3- طویل شدن زنجیره اسیل:

وقتی مالونیل کوآنزیم سنتز شد، آن با تری استیل از C-A: ACP مالونیلی به پروتئین حامل اسیل (ACP) چند آنزیمی سنتز اسیدچرب استعمال می‌یابد. باکتری‌ها و گیاهان نوع fos 11 دارند که یک پروتئین چند واحدی است که یک انتقال آنزیمی را در نظر می‌گیرند. FAC طویل شدن اسیدهای چرب با متراکم کردن کوآنزیم مالونیل متوجه می‌کند.

Fas اسید چرب را کاتالیز می‌کند که با متراکم کردن ملکول‌های مالونیل کوآنزیم و استیل کوآنزیم انجام می‌دهد.ACP که یکی از زیرواحدهای FAS می‌باشد دارای یک ACP که یکی از زیرواحدهای FAS می‌باشد دارای یک گروه سیتول است که می‌تواند از طریق تشکیل سیتواسترها با کوآنزیم مالونیل باعث تشکیل ACP مالونیل شود و سپس آن زنجیره اسیل افزایش می‌یابد تا انتقال آن تضمین شود.ACP می‌تواند با تشکیل استیل ACP باعث تثبیت استیل شود سپس گروه استیل به زیرواحد دیگر FAS انتقال می‌یابد و سنتز کتواستیل ACP صورت می‌گیرد (KAS) که میان کتواستیل ACP را می‌سازد. این ترکیب ایجاد شده ابتدا از طریق سه واکنش پیاپی انتقال می‌یابد. یعنی کاهش هیدروژن زدایی و کاهش و سپس میعان با کوآنزیم مالونیل دیگری صورت می‌گیرد. این چرخه تکرار می‌شود تا زنجیره اشباع یک اسیداستریک یا پالمئیک تشکیل شود. در مناسبت ACP تیواستراز زنجیره اسیل را می‌شکند و اسید چرب آزاد می‌کند.

برای دستیابی به زنجیره‌های طویل‌تر غیراشباع، طویل شدن و اشباع‌زدایی نیاز است که بر روی پالمیتات و استراز عمل کند. این آنزیم‌ها در غشای رتیکولوم آندوپلاسمی و میتوکندری قرار گرفته است که زنجیره اسیدهای چرب طویلی ایجاد می‌کند و زنجیره اسید غیراشباع ایجاد می‌کند و سپس بر روی ترکیب مخزن اسیدچرب عمل می‌کند اما در سطح تجمع آن‌ها نمی‌باشد. بسیاری آزمایشات برای اصلاح می‌توان لیپید تولید امگا هم صورت گرفته است.

3-2تشکیل تری اسیل گلیسرول (TAC):

برای یوکاریوتها، تشکیل TAG در اندام‌های ویژه‌ای رخ می‌دهد یعنی میتوکندری و پلاستید که در رتیکولوم آندوپلاسمی قرار گرفته است، در عوض، سنتز TAG در سیتوپلاسم سلول‌های پروکاریوتی رخ می‌دهد. این فرآیند لیپیدهای خنثی می‌دهد که اسیدهای چرب و انرژی ذخیره می‌شود. ذخیره TAGبا چگالی انرژی بالا به سلول‌ها امکان می‌دهد که فضای آزاد بیشتری داشته باشند.

اولین مرحله سنتز TAG میعان گلیسرول 3- فسفات با یک کوآنزیم اسیل برای تشکیل لیپوفسفات است که با کوآنزیم اسیل باعث کاتالیز گلیسرول –3-sb فسفات اسیل ترانسفراز می‌شود. این آنزیم فعالیت کمتری از مسیر سنتز TAG نشان می‌دهد و به طور بالقوه مرحله محدود کردن سرعت است و تحت بسیاری از کنترل‌های تنظیمی در سطح همانندسازی است و در سطح پس از همانندسازی و آلل‌سازی است. LPA سپس بیشتر میعان می‌شود و با کوآنزیم اسیل کاتالیز می‌شود. فسفات 3-Sn- استیل گلیسرول با کوآنزیم اسیل دیگری تا فسفاتیدات فراهم کند، پس از آن PAمی‌تواند با فسفاتاز اسید فسفاتیدی فسفریل‌زدایی شود.

در نهایت سنتز TAG با اسیل کوآنزیم کاتالیز می‌شود و دی اسیل گلیسرول و اسیل ترانسفراز که در کوآنزیم اسیل سوم در ملکول دی اسیل گلیسرول نقش دارد. این آنزیم نقش مهمی برای این مسیر دارد. TAGs می‌تواند در بدنه‌های خاک ذخیره شود.

1-2-3- کربوکسیلاز استیل کوآنزیم ACC:

چون Pageبه طور موفقی نشان داد که ACC کنترل خوبی برای جریان متابولیک سنتز اسیدهای چرب در گیاهان داردع آنزیم آن در گونه‌های مختلف برای بیش از اندازه بروز می‌یابد تا تولید لیپید را افزایش دهد. برای مثال ACC سیتوزول از Arabidopsis در Brasicnaposبیش از حد بروز یافته که با افزایش 2-1 ابزار بر

فعالیت ACC پلاستید همراه است. به هر حال محتوای اسید چرب ترکیب دوباره آن فقط 6٪ بیشتر از کنترل است که نشان می‌دهد که مانع ثانویه وجود دارد. یعنی مرحله محدودکننده دومی که در مسیر سنتز اسیدچرب وجود دارد و در نتیجه حذف مانع اولیه است. Davis هم چهار ژن ACC را که به صورت کلرنی ایجاد کرد که شامل ACCA و ACCAB و accC و accD از E.coliBL21 و بروز بیش از حد آن‌ها در نژاد مشابه بود. زیرواحدهای ACC در مقادیر مولار مساوی تشکیل شدند. این باعث افزایش در ذخیره مالونیل بین سلولی کوآنزیم مالونیل در نتیجه تقویت فعالیت آنزیمی آن شد.

بهرحال محتوای اسیدهای چرب ترکیب دوباره فقط 6٪ در گروه کنترل بیشتر بورد که نشان می‌دهد که یک مانع ثانویه یعنی مرحله محدودکننده دیگری در مسیر سنتز اسید چرب در نتیجه حذف مانع اولیه وجود دارد که برای ژن‌های ACC می‌شود. یا accB یا accC و accD در E.coliB121و بروز بیش از حد آن‌ها در نژاد مشابهی کلون می‌شود زیر واحدهای ACC در تساوی مولی ایجاد شدند. این باعث افزایش در مخزن کوآنزیم مالوسین بین سلولی در نتیجه تقویت فعالیت سنتز آنزیم ACC شد. افزایش 6 برابر از مقدار سنتز اسید چرب مشاهده شد. به هر حال عدم وجود محتوای اسیدهای چرب دوباره تنها 6٪ بیشتر بود. زیرواحدهای ACC در مقادیر متساوی ایجاد شد.

Sheehan نشان داد که بروز بیش از حد آنزیم ACC به تنهایی برای تقویت کل مسیر بیوسنتز لیپید در دیاتوم‌ها کافی می‌باشد. این نتیجه به نظر می‌رسد که برای بروز بیش از حد آنزیم است که برای تقویت کل مسیر بیوسنتز در دیاتوم‌هاست. این نتیجه به نظر می‌رسد که برای اکثر گونه‌ها می‌باشد چون تجمع تقویت لیپیدی، ایجاد می‌کند. این احتمالا با توجه به دو دلیل زیر می‌باشد:

1- مرحله پیوسته‌ای که با ACC کاتالیز می‌شود که در یک گونه خاصی بیان می‌شود و

2- مرحله‌ی محدودکننده سرعت می‌باشد یعنی مانع ثانویه می‌باشد.

ACC هم بیش از حد بروز یافت با این وجود (KLAUS 2004 افزایش سنتز اسیدهای چرب و افزایش 5 برابر بیشتر در مقدار TAC در Solanumtuberosom با بروز بیش از حد ACC از Arabidopsis در آمیلوپلاست‌های غده‌های سیب‌زمینی را نشان داد.

3-2-2- سنتز اسیدهای چرب (FAS):

آزمایشات در بروز بیش از حد زیرواحد KAS در E.coli برای تسهیل غلظت C3 بدست آمد. در آزمایشات دیگر، یک E.coli KASLLL در rapeseed بیش از حد بروز یافت و کاهش 18:1 اسیدهای چرب ایجاد شد. این تغییر باعث تنش شد که برای رشد سلول‌های گیاهان تأثیرگذار بود. به طور مشابهی KASLLL در استنتاج با Dehesh در تنباکو در NICO tabacum بروز یافت که باعث کاهش در مقدار سنتز لیپیدی و تجمع 16:5 اسیدهای چرب شد.

به نظر می‌رسد که زیرواحدهای FAS با هدف مهندسی متابولیک برای تقویت متابولیسم اسیدهای چرب احتمالا با توجه به این حقیقت است که FAS یک مجموعه چند آنزیمی است که زیرواحدهایی دارد که فعالیت آن‌ها به یکدیگر بستگی دارد. مشکلاتی که با بروز هسترولوگ آن همراه است با توجه به تفاوت‌هایی در کنترل‌های چندنقطه بین گونه‌های متفاوتی می‌باشد.

3-2-3- اسیل ترانسفراز لیزوفسفاتیدات (LPAT):

تبدیل یک ژن ترانسفراز sn-2acyl از مخمر saccharomyces توسط zou انجام شد که باعث بروز بیش از حد فعالیت لیزوفتواسیل ترنسفراز (LPAT) شد. این آنزیم در تشکل TAG نقش دارد و بروز زیاد آن باعث افزایش محتوای روغن دانه از 8٪ تا 48٪ می‌شود که بر مبنای وزن خشک دانه می‌باشد. نشان می‌دهد که این سطح یکنواخت دی اسیل گلیسرول با یک افزایش فعالیت LPAT در دامنه‌های در حال رشد همراه است.

3-2-4- کوآنزیم اسیل:

دی اسیل گلیسرول اسیل ترنسفراز (DGAT) اسیل کوآنزیم:

دی اسیل گلیسرول ترانسفراز از اسیل کاتالیز می‌شود و مرحله آخر تشکیل TAGبرای تشکیل دی اسیل گلیسرول و اسیدچرب کوآنزیم اسیل می‌باشد. دو CDNA طول کامل در Arabidopsis اسیل ترنسفراز کوآنزیم دی اسیل گلیسرول را کدبندی می‌کند. تبدیل مخمر و تنباکو با DGAT در Arabidopsis صورت می‌گیرد. یک افزایش 600-200 برابر فعالیت DGAT در مخمر تبدیل افزایش 600-200 برابر فعالیت DGAT در مخمر تبدیل شده هم مشاهده شد. در تنباکوی اصلاح شده محتوای TAG تا 7 برابر بالاتر از گیاه کنترل افزایش یافت. در مجموع تشکیل قطرات لیپیدی در سیتوپلاسم سلول‌های بزرگ جوان در حال رشد ایجاد شد که در نتیجه

این تغییر شکل و اصلاح بود. ژن DGATهم در گیاه Arabidopsis بیش از حد بروز یافت که نشان داد که محتوای خاک آن در رابطه با فعالیت DGAT تقویت شد که 70-10٪ افزایش یافت.

این موفقیت با DGAT می‌تواند با این حقیقت توصیف شود که زیرلایه DGATو دی اسیل گلیسرول می‌تواند در بیوسنتز فسفولیپید با تشکیل TAG نقش داشته باشد. بروز بیش از حد DGAT می‌تواند دی اسیل گلیسرول بیشتری برای تشکیل TAG ایجاد کند. به جای آنکه تشکیل فسفولیپید را بیشتر کند. بررسی گیاهان نشان داده که افزایش مقدار سنتز TAG با بروز بررسی گیاهان نشان داده که افزایش مقدار سنتز TAG با بروز بیش از حد DGATهم تشکیل اسیدهای چرب را تحریک می‌کند. موقعیت با DGAT می‌تواند با این حقیقت بیان شود که زیرلایه DGAT و دی اسیل گلیسرول می‌تواند در بیوسنتز فسفولیپید یا تشکیل TAGD همراه شود. در واقع بررسی گیاهان نشان می‌دهد که افزایش سرعت TAG با بروز زیاد DGAT تشکیل اسیدهای چرب را تحریک می‌کند. تمام این نتایج نشان می‌دهد که واکنشی که با DGAT کاتالیز می‌شود مرحله مهم محدودکننده سرعت بیوسنتز است. به هر حال هیچ گزارشی درباره بروز زیاد این آنزیم در میکروجلبک وجود ندارد.

3-3- بروز زیاد آنزیم‌های متناسب با بیوسنتز لیپید:

چندین آنزیم که مستقیما در متابولیسم لیپید نقش ندارند هم بر سرعت (مقدار) تجمع لیبر تأثیر دارد که مخزن متابولیت‌های ضروری بیوسنتز لیپید را افزایش می‌دهد.

در زیر چند مثال بیان شده است.

1-3-3- سنتز کوآنزیم استیل:

ACS تبدیل استات کوآنزیم استیل را کاتالیز می‌کند. نشان می‌دهد که وقتی نژاد باکتریایی در استات رشد کند بروز زیاد ACS می‌تواند سرعت (مقدار) سنتز اسید چرب را افزایش دهد. برای مثال Lin مشاهده کرد که با بروز زیاد ژن acsدر E.coli مشاهده کرد که با بروز زیاد ژن acsدر E.coli فعالیت ACSهم تا 9 برابر افزایش می‌یابد که باعث افزایش قابل توجه جذب استات از محیط می‌شود که در بیوسنتز لیپید نقش دارد. این مفهوم برای استات ترشح شده طی رشد باکتری کاربرد دارد.

3-3-2- بروز بیش از حد آنزیم مالیک:

تأثیر AE که تبدیل مالات به پیرووات را کاتالیز می‌کند و ملکول NADPP را به NADPH کاهش می‌دهد در قارچ‌های فیلامینی بررسی شد که با تجمع لیپید همپوشی دارد. مشاهده شد که عرضه شیر انرژی در نتیجه بروز زیاد ME با استفاده از آنزیم‌هایی است که در سنتز TAG نقش دارد و باعث افزایش تولید لیپید می‌شود. مشاهده شد که افزایش فعالیت ME باعث افزایش مخزن NADPH سیتوزولی می‌شود.

روش مشابه یعنی اینکه اجازه دهیم که لیپوژنز بدون محدود شدن انرژی با بروز زیاد ME ایجاد شود طوری که تجمع لیپید حداکثر شود اخیرا توسط Zhang ارزیابی شده است. با circinelloidmucor ارزیابی شده است. ژنی که ME را در M.circinelloid کدبندی می‌کند از Mortierella alpine است که در M.circinelloid بروز زیادی یافته و افزایش 2 تا 3 برابری در فعالیت MEایجاد کرده است که برای نژادهای تغییر ژنی malEmt و malEMC مشاهده شده است. در هر دو مورد افزایش فعالیت MEبه همراه تجمع سریع لیپید و نژادهای malEMCو malEMT تغییر ژنی می‌باشد.

3-3-3- ATP: لیاز سیترات (ACL):

ACL تبدیل سیترات به استیل کوآنزیم واگذار و استاز را کاتالیز می‌کند پس منبعی از استیل کوآنزیم برای بیوسنتز اسیدهای چرب ایجاد می‌کند. به خوبی نشان می‌دهد که ACL یک آنزیم اصلی در تنظیم تجمع لیپیدی در پستانداران و مخمرها و قارچ‌هاست و نشان می‌دهد که ACL هتروزیگوتی می‌تواند وارد پلاستید گیاهان شود. بروز زیاد ACL موش باعث افزایش 4 برابری در کل فعالیت ACL می‌شود که این ا فزایش مقدار اسید چرب تا 1٪ است و باعث تغییر قابل توجهی در پروفایل اسیدچرب می‌شود.

3-4- مسدود کردن مسیر رقابتی:

از دیدگاه مهندسی متابولیک بولک کردن مسیر رقابتی جریان متابولیک را تقویت می‌کند و کانال در بیوسنتز TAG را تقویت می‌کند. بتا اکسیداسیون هم مسیر متابولیک اصلی مسئول تجزیه اسید چرب در یوکاریوتهاست. با این کار آن اسیدهای چرب را که پیش ماده تشکیل TAG است را مصرف می‌کند. پس احتمالا با مسدود کردن این مسیر تقویت می‌کند، Cao etal نشان داد که استفاده از روش غیرمستقیم یعنی بازدارندگی سیستم انتقال استیل کوآنزیم برای جفت کردن بتا اکسیداسیون در پروکسیزوم و چرخه TCA در میتوکندری ضروری است اما

هیچ آنزیمی از بتا اکسیداسیون قابلیت بازدارندگی بتااکسیداسیون Candida tropicali را ندارد. اسیدهای دی کربوکسیل DCA می‌تواند با اکسیداسیون آلکان‌ها با Tropicali ایجاد شود. به هر حال DCAS می‌تواند بوسیله بتا اکسیداسیون به استیل کوآنزیم تجزیه شود که باعث می‌شود محصول DCA کاهش یابد . در C.tropicali استیل کوآنزیم به میتوکندری انتقال می‌یابد تا در دسترس چرخه TCA شود و با ترانسفراز استیل کارینتین (CAT) صورت می‌گیرد که تولید انرژی و بتا اکسیداسیون به هم ارتباط می‌یابند. نشان می‌دهد که کاهش فعالیت خاص CAT در سلول‌های ترکیب دوباره حدود 50٪ باعث افزایش 21٪ غلظت DCA می‌شود و 12٪ افزایش تبدیل مولی آلکان ایجاد می‌کند. به هر حال ترکیب دوباره‌ای بدون فعالیت شناسایی شده CAT نمی‌تواند در آلکان رشد یابد. این نتایج نشان می‌دهد که بازدارندگی جزئی بتا اکسیداسیون می‌تواند تولید DCA را تسهیل کند. به هر حال توقف کامل فرآیند انتقال برای عرضه انرژی مضر است. بیوسنتز فسفولیپید هم مسیر رقابتی دیگری برای تشکیل TAG می‌باشد چون در برابر بیوسنتز TGA برای زیرلایه مشترک فسفاتیدات رقابت می‌کند. اگر فسفاتیدات به CDP– دی استیل گلیسرول به جای دی اسیل CDP گلیسرول تبدیل شود، آن وارد مسیر سنتز فسفر لیپیدی می‌شود. بروز زیاد DGAT آنزیم هم اثری بر کانال‌دهی فسفانیترات به تجمع TGA دارد. از سویی دیگر نشان می‌دهد که بازدارندگی سنتز فسفولیپید باعث تشکیل اسیدهای چرب با طول غیرطبیعی می‌شود که با توجه به چرخه طویل شدن مکمل آن می‌باشد. مسیر رقابت سوم هم تبدیل فسفر نوپیرووات به اکسالواستات است که با کربوکسیلاز فسفوانول پیرووات کاتالیز می‌شود.

بیوسنتز TAG هم به فسفوانول پیروات نیاز دارد با بروز antisense PEPC در B.napus یک افزایش 18٪ - 6/4 محتوای چربی مشاهده شد که نشان می‌دهد که کاهش فعالیت PCPL باعث افزایش تجمع لیپید می‌شود.

3-5- روش چند ژنی:

روش چند ژنی یعنی بروز زیاد بیش از یک آنزیم اصلی در مسیر TAG برای تقویت بیوسنتز لیپید را چند محقق بیان کرده‌اند. بررسی‌های گسترده‌ای درک خوبی از متابولیسم لیپید در گونه‌های متفاوت ایجاد کرده است. بر مبنای این دانش، آزمایشات متعددی انجام گرفته که دسترسی ژن‌ها به آنزیم‌های اصلی مربوط به سنتز لیپید برای تقویت تولید لیپید گونه‌های متفاوت را نشان می‌دهد. آن‌ها به چهار روش متفاوت بیان می‌شود.

1- بروز بیش از حد آنزیم‌های محدودکننده سرعت مسیر بیوسنتز TAG می‌باشد.

2- بروز زیاد آنزیم‌هایی که مسیر TAG را تقویت می‌کند.

3- مسیری که مسیرهای رقابتی را مسدود می‌کند.

4- روش تغییر ژنی چند ژنی می‌باشد. به نظر می‌رسد که DGAT و ME معمول‌ترین آنزیم‌هایی است که باعث تقویت تولید لیپید می‌شود. که در گیاهان بیش از حد بروز می‌یابند. به هر حال گزارشی درباره بروز زیاد هر یک از این آنزیم‌ها در میکروجلبک یافت نمی‌شود در حالی که مسدود شدن کامل مسیر رقابتی برای رشد سلولی مضر است. موفقیت قبلی آن با بروز CAT و PEPC حاصل می‌شود.

4- روش مهندسی عامل تغییر ژنی:

اخیرا بیان شده که تنظیم مسیرهای متابولیک در شرایط کل سلول بررسی می‌شود به جای آنکه در سطح یک سلول تنها بررسی شود. استفاده از عوامل منظمی مثل عامل همانندسازی برای کنترل فراوانی و فعالیت آنزیم‌های متناسب برای تولید محصولات مطلوب مورد علاقه زیادی است. TFS پروتئین‌هایی است که همانندسازی DNA را با تخصیص توالی خاصی DNA و واکنش‌های پروتئین به پروتئین و پروتئین به DNA کاتالیز می‌کند. طبق ساختار و دیاتوم‌های متصل به DNA به 50 خانواده تقسیم می‌شوند می‌توانند با دستگاه همانند سازی مثل DNA پلیمراز واکنش دهند و فعال شدن آن را تقویت کند. می‌تواند به عنوان متوقف کننده عمل کند تا تغییرات تنظیم بدی در تولید متابولیت‌ها ایجاد کند بدون آنکه مسیر متابولیت آن را نشان دهد. بر خلاف روش GE هدف در یک ژن در روش TF بر تعداد زیادی ژن‌ها در مسیر متابولیک تأثیر دارد که باعث تنظیم آن در این مسیر می‌شود.

اگر چه TEEدر میکروجلبک هنوز در مرحله رویانی است TFSمتعددی قادر است که تولید زیاد متابولیت‌های آن در گونه‌های مختلف انواع TFs را برای تنظیم سنتز لیپید در حیوانات و گیاهان و میکروارگانیسم‌ها تحریک کند.

4-1- تقویت تولید متابولیت توسط TFE:

4-1-1- عوامل همانندسازی پروتئین روی برای تقویت پروتئین‌های دارویی:

عوامل همانندسازی پروتئین Zinc-finger که دارای بسیاری از عملکردهایی است که در قالب آبشاری متصل شده‌اند در پروتئین‌های متصل به DNA بررسی شده است. از بین این‌ها پروتئین C2H2 است که 176 عضو در

arabidopsisدارد. و یکی از بزرگترین خانواده‌های TFS در گیاهان را شکل می‌دهد که خاص گونه است و دارای یکی BALGGTحفظ شده در دامنه روی خود است. مشخصات اخیر پروتئین‌های مختلف C2H2 در Arabidopsis نشان می‌دهد که بیماری در پروتئین‌ها به عنوان بخشی از شبکه تحریک محیطی عمل می‌کند که به تحریک‌های محیطی مختلف پاسخ می‌دهد. بر اساس درک ویژگی‌های ساختاری و عملکردی طبیعی که در درک پروتئین‌های انگشتی ایجاد می‌شود، چند روش طراحی برای ایجاد پروتئین‌های انگشت روی مصنوعی برای کاربرد تنظیم ژن و ژن درمانی ارائه شده است.

تولید بیشتر پروتئین درمانی هم با بروز زیاد ZFP TF ایجاد شدکه تولید بیشتر پروتئین درمانی هم با بروز زیاد ZFP TF ایجاد شدکه به توالی DNA در پیش ماده پروتئین درمانی از خط سلولی تولید پستانداران متصل می‌شود. این ZFP TF بیش از 100٪ افزایش در محصول پروتئینی سلول‌های CHO ایجاد می‌کند. ناقلان بروز هم طراحی شده تا محل اتصال 10ZFP را ایجاد کند که بیشتر افزایش تنظیم شده‌تری در ZFP در تولید پروتئین تا 500٪ ایجاد می‌کند.

Table 2
Transcription factors enhanced production of high-value products.

TF	Source-species (taxonomy)	Receiver-species (taxonomy)	Effectiveness	Refs
Artificial zinc fingers	Artificial	Tobacco (plant)	High level activation of a β-glucuronidase gene stable, inheritable, non-toxic	Segal et al. (2003)
Zinc fingers	Human	CHO cells	2-fold increase of IgG antibody production	Reik et al. (2007)
MYB and bHLH	*Arabidopsis thaliana* (plant)	*Arabidopsis thaliana* (plant)	Strongly enhanced flavonoid biosynthesis	Vom Endt et al. (2002)
ORCA2	*Catharanthus roseus* (plant)	*Catharanthus roseus* (plant)	Induction of genes leading to TIA biosynthesis	Vom Endt et al. (2002)

جدول2

2-1-4- عوامل انتقال MyB و Bhlb برای افزایش تولید فلاوونوئیدها در گیاهان:

عوامل همانندسازی MyB و Bhlh در گیاهانی مثل A.thalias بررسی شده‌اند و بیوسنتز فلاوونوئیدها را و به ویژه آنتوسیانین و تیانین روکش بذر را تنظیم می‌کند. وقتی ژن های Rو C1 که یک Bhlh و یک پروتئین MyB را به ترتیب کدبندی می‌کنند به لحاظ اکتوپیکی در خطوط سلولی طبیعی که جدا نشده‌اند بروز می‌دهند، تجمع آنتوسیانین مشاهده می‌شود که این در نتیجه پاسخ مشترکی به TFS از نظر یک بروز کلی ژن‌های ساختاری می‌باشد. به طور مشابهی، بروز بیش از حد MYB و Arabidopsisهم افزایش قابل توجهی در بیوسنتز فلاوونوئیدها ایجاد می‌کند.

3-1-4- پروتئین ARCAZ برای تقویت تولید آلکالوئید در گیاهان آلکالوئیدهای گیاهی:

منبعی از بسیاری از محصولات طبیعی جدید مثل عوامل دارویی می‌باشند. چند TFS که در تنظیم بیوسنتز آلکالوئیدهای گیاهی نقش دارند جداسازی و بررسی شده‌اند. در بین آنها پروتئین ORCAZمی‌باشد. TF باعث تحریک بیوسنتز آلکالوئید ایندول ترپنوئید (TIA) می‌شود و نشان داده شده که با بروز بیش از حد ORCAZ چند ژن مسیر بیوسنتز TIA بیش از حد بروز یافته‌اند که باعث افزایش تشکیل TIA می‌شود.

2-4- TEF برای افزایش تولید لیپید میکروجلبک:

چگونه از آن فاصله گرفته‌ایم؟ برای آنکه بتوانیم روش TFE را برای تولید بیش از اندازه لیپید در میکروجلبک اجرا کنیم، TFS جلبک را باید تعریف کنیم. تعدادی TFS مسوول تنظیم بیوسنتز لیپید در حیوانات و گیاهان شناسایی شده‌اند. برای مثال پروتئین متصل به عامل تنظیم استرول (SREPP) به عنوان تنظیم کننده‌های اصلی هموستاز لیپید در پستانداران می‌باشند. در گیاهان، آن نشان می‌دهد که پروتئین SebHLH که عضو bHLH خانواده TFS می‌باشد نقش مهمی در تنظیم همانندسازی ژن‌های مربوط به ذخیره بیوسنتز لیپید و تجمع آن طی رشد بذر ایفا می‌کند. آن گزارش می‌کند که ژن‌های TF نوع DOFسویا در تنظیم محتوای لیپید در بذرهای سویا نقش دارد. بین 28 ژن TF نوع DOF که الگوهای بروز متنوعی در انواع اندام‌ها نشان می‌دهند و توانایی‌های متفاوتی برای فعالیت‌های همانندسازی و اتصال به DNA دارند، دو ژن یعنی GmDOF4 و GmDOFLL باعث افزایش محتوای کل اسیدهای چرب و لیپیدها در بذرهای Arabidopsis تغییر ژنی می‌شوند و ژن‌هایی را تنظیم می‌کنند که با بیوسنتز اسیدهای چرب ارتباط دارند. توالی خانواده TF نوع DOF هم در ارگانیسم‌های متنوعی از گروه‌های تاکسونومی مختلف شناسایی شدند. جلبک سبز تک سلولی Chlamydomonasreinhordtii و خزه physocomitrella و دو لپه‌ای A.thaliana و تک لپه‌ای‌های آنگوسپرم orza sativa و Hordeumvulgare گزارش شدند. قابل ذکر است که پروتئین‌های SREBP، تنظیم کننده اصلی هموستاز لیپید پستانداران هم در گیاهان و میکروارگانیسم‌هایی که حفظ توالی بالایی دارند یافت می‌شوند. با این وجود عملکردهای تنظیمی آن‌ها از عملکردهای آن‌ها در پستانداران بسیار متفاوت است. برای مثال در مخمر Schizosaccharonyce آنالوگ SREBP که Srelp نام دارد فعال‌کننده‌ی بالقوه‌ی بروز ژن بی‌هوازی است که ژن‌هایی که برای مصرف اکسیژن غیرتنفسی نیاز است را تنظیم می‌کند. در حالی که

تعدادی از ژن‌های دیگر را هم بد تنظیم می‌کند، مشاهده شده است که مسیرهای بیوسنتزی که برای ارگوسترول به اکسیژن نیاز دارند، هم و اسفینگولپید و پوکوآنزیم A اهداف اولیه Srelp می‌باشد که مستقیما در پیش ماده‌های ژن هدف عمل می‌کنند. TFS می‌تواند به یک سلسله مراتب معرفی دسته‌بندی شود که تأثیر TFS سطح بالا هم متغیر است و به سطح آن‌ها در آن مراتب نیاز دارد. یک TFS سطح بالا هم تأثیرات مهمی بر TFSدیگر دارد و در نتیجه دامنه زیادی از ژن‌ها را تنظیم می‌کند. پیش‌بینی می‌شود که نتیجه این TFS سطح بالا بر روی بروز ژن کلی هنوز با درک محدودی که داریم سخت می‌باشد. از سویی دیگر TFSسطح پایین به طور کلی حفظ شده و بکار بردن آن در طراحی متابولیک بین گونه‌ها ضروری می‌باشد. به نظر می‌رسد که از مبحث قبلی واضح است که TFS که بیوسنتز لیپید را تنظیم می‌کند TFS سطح پایین در گونه‌های مختلفی است که TFS متفاوتی برای تنظیم لیپید دارند. تاکنون اطلاعات زیادی در رابطه با تنظیم اسیدهای TFSدر رابطه با میکروجلبک وجود دارد. حداقل TFS 14r فرضی و 87 تنظیم کننده TRso همانندسازی در جلبک سبز C.reinhardt1 تا سال 2008 شناسایی شده‌اند.

به هر حال فقط عملکرد بیولوژیکی تعداد اندکی از آن‌ها تعیین شده هیچ آثاری با توجه به TFS تربیوسنتز لیپیدها را در میکروجلبک تنظیم کند یافت نگردیده است. بهترین کار در حال حاضر این است که TFS تنظیم لیپیدی را در میکروجلبک شناسایی کنیم تا بتوانیم روشی برای افزایش تولید لیپید بدست آوریم. خوشبختانه، روش‌های مختلفی برای شناسایی،خالص‌سازی و مشخص‌سازی TFS توسعه یافته است و مبنای خوبی برای بررسی‌های آینده ایجاد می‌کند. یک روش متداول که برای شناسایی TFS استفاده می‌شود شامل مقایسه همانندسازها و پروتئویوی‌های میکروجلبک‌های هدف تحت شرایط کنترل شده می‌باشد که تشکیل متابولیت‌های دلخواه را به ترتیب امکان‌پذیر ساخته و جلوگیری می‌کند.

برای مثال Egan یک تنظیم کننده همانندسازی TonR شکلی شناسایی کرد که بروز بازدارنده‌ها در Psevdolmonns را کنترل می‌کند به صورتی که توالی ژنی یک نقص جهش یافته انتقال را در فعالیت‌های antifoulnsتنظیم کرده و آنالیز دقیق عملکرد منظمی wmpc را امکان‌پذیر می‌سازد. اخیرا بررسی‌های همانندسازی با استفاده از میکروردیف هم برای شناسایی عوامل تنظیم تولید هیدروژن و e.reinhardti به کار رفته است. در این بررسی آنالیز میکرو آرایه برای دستیابی به پروفایل‌های بروز کلی فراوانی mRNA در جلبک

سبز C.relinhardi در نقاط زمانی متفاوت قبل از شروع و طی تولید هیدروژن وابسته به سولفور بکار رفت. این بررسی‌ها با آنالیزهای پروتئینی و همانندسازی PCR معکوس همزمان صورت گرفت. بین پیش آز 2 برابر ژن بروز یافته متفاوت می‌باشند. 10 تا مورد که نقش و فرضی در همانندسازی دارند دسته‌بندی شدند.

چهار تا از این‌ها طی مرحله تولید هیدروژن تنظیم شدند که شامل ژن‌هایی است که عامل 3 پردازش Pre-mRNA و عامل شروع یوکاریوتی 10- 4A و عامل تکه کردن 2a زیرواحد 3 و پروتئین L11 ریبوزومی 30S کلروپلاست را کدبندی می‌کند. تعدادی از روش‌های متفاوت برای خالص‌سازی T5 ایجاد شده است که مرحله مهمی قبل از بررسی ساختار و عملکرد TFS می‌باشد. در اصل، این روش‌ها بر اساس توانایی TFS برای شناسایی و و اکنش با توالی‌های DNA حامی است که در پیش ماده‌های ژن‌های یوکاریوتی وجود دارد. خالص‌سازی یک TF با آماده‌سازی عصاره‌های هسته‌ای از سلول‌های مناسب با بافت‌ها صورت می‌گیرد که تحت یک روش‌های پیش درمان اگر ضروری باشد قرار می‌گیرند که پس از یک کروماتوگرافی کشش DNA می‌باشد. روش‌های مختلفی بر این مشخص کردن ساختار TFS و واکنش آن‌ها با توالی‌های DNA بکار می‌رود. این روش‌ها شامل آزمایش تغییر جابجایی الکتروفورز CEMSAS و حفظ DNASEAL و blotting جنوب غربی می‌باشد. اسپکتروسکوپی NMR و بلورسنجی اشعه X هم به طور متداول در ترکیب با روش‌های دیگر برای بررسی ساختار TF و واکنش TF-DNA بکار می‌رود. دانش جامعی از محل‌های اتصال TF برای درک عوامل تنظیمی TF مناسب می‌باشد. روش‌هایی برای شناسایی TFBS که شامل روش‌های آزمایش و روش‌های محاسباتی می‌شود در چند مرکز بررسی مرکزی یافت می‌شود. روش تولید روغن روش خوبی است که پیشرفت خوبی داشته و تولید روغن میکروجلبک مؤثری را امکان‌پذیر کرده است. به هر حال TFE برای تولید لیپید میکرجلبک تقویت شده هنوز در مراحل اولیه است و اولین مرحله هم شناسایی عوامل منظم میکروجلبک تنظیمی است.

روش‌های مختلفی برای شناسایی و خالص‌سازی و مشخص کردن TFS و عوامل TFs وجود دارد.

5- نتایج:

سه روش خوب وجود دارد که به طور بالقوه برای افزایش تولید لیپید میکروجلبک بکار می‌رود ابتدا روش E بر کاربرد تنش بهینه یوکوژیکی مثل کاهش مواد غذایی به سیال متابولیک کانال و بیوسنتز لیپید ارتباط دارد. سه روشی است که غالبا بین روش کنونی بکار رفته است.

دوم GE و روش‌های TFE دیدگاه درازمدتی هستند اگر چه موارد موفقی در تولید زیاد لیپید با استفاده از نژادهای میکروجلبک لیپیدی دیده می‌شود اگر چه موقتی درباره تولید زیاد لیپید با استفاده از نژادهای میکروجلبک تغییر یافته وجود ندارد و انرژی مسیرهای لیپیدی و گونه‌های ژنتیکی نشان می‌دهد که DGAT و ME بهترین اهداف تبدیل ژنی می‌باشد. تنظیم ژن بر PEPC برای کاهش فعالیت PEVL هم برای تولید لیپید در برخی گونه‌های میکروجلبک مفید می‌باشد. در نهایت TFF روش جدیدی است که پتانسیل زیادی دارد. بررسی‌های عمیق درباره با تنظیم مسیر لیپیدی گونه‌های میکروجلبک مختلف مراحل ضروری اجرای موفق روش TFE می‌باشد. برای این هدف، روشهایی برای شناسایی و خالص‌سازی و مشخص کردن TFS شناسایی شدند.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

✔ لیست مقالات ترجمه شده

✔ لیست مقالات ترجمه شده رایگان

✔ لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی