

ЭКСПРЕССИЯ ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА ЧЕЛОВЕКА В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ РЯСКИ МАЛОЙ.

Фирсов А. П. , Шалойко Л. А. , Долгов С. В.

*ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
aleksey_firsov@mail.ru*

Для производства рекомбинантных белков могут быть использованы различные экспрессионные системы, в том числе, на основе трансгенных растений. В настоящее время такие системы имеют ограниченное использование, в первую очередь по причине опасения неконтролируемого распространения рекомбинантной ДНК в окружающей среде. Эта проблема может быть решена путём разработки замкнутых культивационных систем, исключающих её вынос в окружающую среду. Перспективным объектом для разработки экспрессионных платформ с использованием замкнутых культивационных систем на основе биореакторов является ряска малая. Ряска малая, маленькое однодольное водное растение, может культивироваться в фотобиореакторах на дешевых минеральных средах, характеризуется высокой скоростью роста и высоким содержанием белка.

Растения ряски были трансформированы нуклеотидной последовательностью гранулоцитарного колониестимулирующего фактора человека (GCSF), оптимизированной для экспрессии в однодольных растениях. В результате агробактериальной трансформации вектором pBI-GCSF было получено более 50 независимых канамицинустойчивых линий; интеграция целевого гена ГКСФ в геном растений была подтверждена методом ПЦР. Скрининг полученных линий выявил экспрессию ГКСФ в 48 из них. Накопление рекомбинантного ГКСФ в трансгенных линиях варьировало в широком диапазоне – от 7,0 до более чем 70,0 мкг на 1 г сырой массы ряски. Методом Вестерн блот анализа было показано присутствие в препаратах общего белка из трансгенных растений иммунореактивной полосы с молекулярной массой около 20 кДа, соответствующей ГКСФ. Полученные растения – продуценты нормально росли и по своим морфологическим, и ростовым характеристикам не отличались от нетрансформированных контрольных растений ряски. Таким образом, проведённые эксперименты на примере ГКСФ подтвердили возможность экспрессии в ряске малой рекомбинантных белков терапевтического назначения.

EXPRESSION OF HUMAN GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR IN TRANSGENIC DUCKWEED PLANTS.

Firsov A. P. , Shaloyko L. A. , Dolgov S. V.

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
aleksey_firsov@mail.ru*

Various expression systems, including on transgenic plants based, can be used to produce recombinant proteins. Currently, such systems have limited use, primarily due to concerns about the uncontrolled spread of recombinant DNA in the environment. This problem can be solved by developing closed cultivation systems that prevent its release into the environment. A promising object for the development of expression platforms using closed cultivation systems based on bioreactors is duckweed. Duckweed, a small monocotyledonous aquatic plant, can be cultivated in photobioreactors on cheap mineral media, it characterized by a fast growth and high protein content.

Duckweed plants were transformed with the nucleotide sequence of human granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) optimized for expression in monocots. As a result of *Agrobacterium*-mediated transformation with the pBI-GCSF vector, more than 50 independent kanamycin-resistant lines were obtained; integration of the target GCSF gene into the plant genome was confirmed by PCR. Screening of the obtained lines revealed GCSF expression in 48 of them. Accumulation of recombinant GCSF in transgenic lines varied in a wide range - from 7.0 to more than 70.0 µg per 1 g of wet duckweed weight. Western blot analysis showed in total protein samples from transgenic plants the presence of an immunoreactive band with a molecular weight of about 20 kDa corresponding to GCSF. The obtained producer plants grew normally and did not differ in their morphological and growth characteristics from untransformed control duckweed plants. Thus, the experiments performed using GCSF as an example confirmed the possibility of expressing recombinant therapeutic proteins in duckweed.