



Отделение биологических наук РАН  
Общество физиологов растений России  
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН  
Научный Совет по физиологии растений и фотосинтезу РАН  
Технический комитет № 447 «Биологическая безопасность пищевых продуктов, кормов  
и методы ее контроля» Федеральной службы РФ по техническому регулированию и метрологии  
Секция сохранения генетических ресурсов Международного Фонда «Культуры Мира»  
Альянс стран СНГ «За Биобезопасность»  
Российский университет дружбы народов

## **IV Всероссийский симпозиум «ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ:**

**технологии создания, биологические свойства,  
применение, биобезопасность»**

**и**

**Годичное собрание  
Общества физиологов растений России**

Москва, 19-23 ноября 2012 г.

**ПРОГРАММА  
ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ**

МОСКВА ♦ 2012

## СОЗДАНИЕ, ЭФФЕКТИВНАЯ ЭКСПРЕССИЯ И ДЕТЕКЦИЯ ГИБРИДНЫХ БИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ЛИХЕНАЗЫ *CLOSTRIDIUM THERMOCELLUM* В РАСТЕНИЯХ

Герасименко И.М.\*, Синдаровская Я.Р.\*, Кучук Н.В.\*, Тюрин А.А. \*\*, Вячеславова А.О. \*\*, Шимшилашвили Х.Р. \*\*, Шелудько Ю.В.\*, Голденкова-Павлова И.В.\*\*

\* Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, 03680 Киев, ул. Заболотного, 148; (044)5267104

\*\* Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, 117971 Москва, ул. Губкина, 3; тел.:(499)1356213

E-mail: ysheludko@ukr.net

Главными препятствиями для биотехнологического получения рекомбинантных белков в растениях являются низкий уровень накопления целевого продукта и сложность селекции стабильно высокопроизводительных линий и дальнейшего контроля уровня экспрессии трансгена. В нашей работе путем трансляционного слияния последовательностей целевых и репортерного генов с добавлением транспортных сигналов были созданы гибридные экспрессионно-репортерные системы, использование которых, с одной стороны, обеспечивает эффективное накопление целевого продукта с сохранением функциональной активности, с другой – позволяет проводить мониторинг накопления рекомбинантного белка.

Методами молекулярного клонирования сконструированы гибридные гены, в которых целевые гены интерферона альфа 2А человека (INF-2A), интерферона альфа 2b человека (IFN), соматотропного гормона человека (hGH), эритропоэтина (EPO) и зеленого флуоресцентного белка (GFP) трансляционного слиты с последовательностью гена репортерного белка термостабильной лихеназы *C. thermocellum* licBM3. Созданные гибридные гены *INF-2A::licBM3*; *IFN::licBM3*; *hGH::licBM3*, *EPO::licBM3* *GFP::licBM3* были перенесены в векторы, адаптированные для растительной экспрессии. В гибридных генах последовательность зрелого IFN была объединена с сигнальным пептидом растительного белка-шаперона кальретикулина, что, как было показано раньше, увеличивает накопление продукта по сравнению с нативным лидерным пептидом.

Лихеназная активность обнаружена после транзientной экспрессии всех гибридных генов, которые содержали ее последовательность. Методом энзимогамм доказано, что в растениях происходит образование белковых продуктов гибридных генов, молекулярная масса которых соответствует теоретически рассчитанной. Продemonстрирован высокий уровень накопления рекомбинантных белков гибридных генов. Доказано, что активность интерферона IFN в составе гибридных белков сходна с активностью нативного интерферона. В бифункциональном репортере GFP::LicBM3 одновременно с лихеназной активностью наблюдалась флуоресценция GFP.

Таким образом, нами предложен и апробирован новый способ эффективного синтеза и детекции в растениях рекомбинантных белков.

**Поддержка:** Грант ГФФД-РФФД грант F40.4/021 (УкрИНТЭИ №0112U005083), грант РФФИ № 11-04-90466-Укр\_ф\_a и НАНУ (УкрИНТЭИ №0110U006061).