

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Получение биобезопасных трансгенных растений нового поколения без селективных генов устойчивости, экспрессирующих ген HBsAg

Пучко Елена Николаевна

Аспирант

*Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Пуццино, Россия, молекулярной биологии, Пуццино, Россия
E-mail: elena-cheb@yandex.ru*

Для отбора трансгенных растений традиционно используют селективные гены устойчивости к антибиотикам и гербицидам или гены-репортеры. Используемые в настоящее время коммерческие трансгенные растения с устойчивостью к вредителям и гербицидам представляют существенную потенциальную биологическую и экологическую опасность, связанную с их негативным влиянием на полезные организмы агробиоценозов. В связи с этим остро стоит проблема разработки методов получения трансгенных растений нового поколения без “генетического мусора”, к которому относятся селективные гены устойчивости к антибиотикам и гербицидам и другие маркерные гены.

Целью данной работы стало получение безмаркерных растений с геном поверхностного антигена вируса гепатита В (*HBsAg*). Нами разработан способ получения трансгенных растений без селективных генов устойчивости. Преимущество разработанной стратегии заключается в том, что сокращается время отбора трансгенных растений и одновременно появляется возможность прямой количественной оценки синтеза продукта целевого гена. Для трансформации растений создана плаزمид рВМ, не содержащая селективных маркеров устойчивости к канамицину. Этот вектор для трансформации растений содержит область Т-ДНК агробактерий для интеграции в растительный геном, а также полилинкер исходного вектора с удобными сайтами для клонирования. В эту плазмиду клонирован ген *HBsAg* под контролем двойного промотора 35S РНК вируса мозаики цветной капусты CaMV 35SS. Полученную конструкцию рВМ-Аг перенесли в штамм агробактерий, который использовали для заражения листовых эксплантов и семян табака *Nicotiana tabacum* L. и томатов *Lycopersicon esculentum* Mill. с помощью вакуумной инфильтрации. Применение такого способа трансформации позволило повысить ее на 15-20%, по сравнению с обычной трансформацией. В результате получено несколько линий растений табака и томата, синтезирующих HBsAg на уровне до 0,05% от общего растворимого белка. Получены трансгенные растения второго поколения F1, содержащие ген поверхностного антигена вируса гепатита В. Наличие гена *HBsAg* в растениях подтверждено методом полимеразной цепной реакции. С помощью иммуноферментного анализа показано, что количество HBs-антигена в растениях составило в среднем до 0,02% от общего растворимого белка.

Синтез HBs-антигена в полученных нами трансгенных растениях достаточен для использования их в качестве безопасных продуцентов белков терапевтического назначения.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект проект 11-08-00413) и Программы Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере "Участник молодежного научно-инновационного конкурса (У.М.Н.И.К)2009.

Конференция «Ломоносов 2011»

Слова благодарности

Автор выражает признательность д.б.н. Рукавцовой Е.Б. за помощь в работе и подготовку тезисов.