

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-116

**ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЛЮЦЕРНЫ СЛАБОУСЕЧЕННОЙ  
(*MEDICAGO TRUNCATULA* GAERTN.), ПРОДУЦИРУЮЩИХ КУРИНЫЙ ИНТЕРФЕРОН-ГАММА\*****A STUDY OF TRANSGENIC ALFALFA PLANTS (*MEDICAGO TRUNCATULA* GAERTN.)  
PRODUCING CHICKEN INTERFERON-GAMMA**

К. П. Чернов, М. С. Бурлаковский, Е. С. Окулова, Д. Р. Аглиуллина, М. В. Падкина, Л. А. Лутова

*Санкт-Петербургский государственный университет*

K. P. Chernov, M. S. Burlakovsky, E. S. Okulova, D. R. Agliullina, M. V. Padkina, L. A. Lutova

*Saint Petersburg State University*

✉ kir.chno@yandex.ru

**Аннотация**

В современной фармакологии наблюдается переход от низкомолекулярных препаратов к белковым, которые нарабатывают с применением трансгенных организмов-продуцентов. На примере растений-продуцентов гамма-интерферона мы демонстрируем преимущества и недостатки растительной системы экспрессии и методы повышения ее эффективности.

**Abstract**

In modern pharmacology, there is a transition from low-molecular-weight drugs to protein drugs, which are obtained using transgenic producing organisms. Using the example of gamma interferon producing plants, we demonstrate the advantages and disadvantages of the plant expression system, and methods to increase its effectiveness.

Интерфероны (IFN) — белки класса цитокинов, обладающие противовирусной, антибактериальной и противоопухолевой активностью, которые можно применять как самостоятельные препараты и в сочетании с антибиотиками и вакцинами, усиливая их действие и позволяя уменьшить масштабы применения. После терапии IFN мясо и молоко можно использовать без ограничений, к тому же они не вызывают формирования резистентности у патогенов [1].

Единственным способом получения таких сложных молекул, как белки, например IFN, является использование трансгенных организмов-продуцентов, как правило бактерий, клеток млекопитающих и грибов. В настоящее время в продаже уже имеются препараты IFN, полученные с помощью бактерий [2]. Однако растения, как продуценты рекомбинантных белков, имеют ряд потенциальных преимуществ, среди которых можно выделить минимальную стоимость единицы биомассы. В случае съедобных растений появляется возможность избежать финансовых затрат на выделение и очистку целевого белка, что составляет в некоторых случаях до 80 % стоимости рекомбинантного белка, а также не требуется специально обученный персонал для инъекционного введения [3].

Трансгенные растения табака (*Nicotiana tabacum* L.), продуцирующие бычий IFN- $\gamma$ , были получены ранее в лаборатории генной и клеточной инженерии растений на кафедре генетики и биотехнологии СПбГУ. Было показано стабильное наследование трансгена в течение 4 поколений с сохранением экспрессии и присутствием в тканях растения IFN- $\gamma$  быка, демонстрирующего биологическую активность (в опытах на культуре клеток быка и лабораторных мышах). Однако были выявлены и недостатки трансгенного табака: растение несъедобно, отличается малым и нестабильным уровнем накопления IFN- $\gamma$  [3].

Для решения обнаруженных проблем в качестве объекта дальнейшей работы выбрали люцерну слабоусеченную (*Medicago truncatula* Gaertn.). Это растение съедобно и активно используется в сельском хозяйстве как кормовое. Для повышения уровня накопления целевого вещества использовали модифицированный (укороченный) ген куриного IFN- $\gamma$ , который кодирует более устойчивый к протеолизу и при этом не теряющий своей активности белок [4].

С помощью агробактериальной трансформации были созданы пять независимых трансгенных растений, от которых самоопылением были получены потомки. Помимо стандартного анализа на наличие (ПЦР) и актив-

\* Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).

© К. П. Чернов, М. С. Бурлаковский, Е. С. Окулова, Д. Р. Аглиуллина, М. В. Падкина, Л. А. Лутова, 2024

ность (ОТ-ПЦР, Вестерн-блот) трансгенной вставки была проведена «Прогулка по геному» (*Genome walking*) [5], позволившая установить наличие кластеров Т-ДНК (в 3 из 5 линий) и сайт встраивания в геном. Полученные результаты согласуются с литературными данными, гласящими, что оптимальной структурой для эффективной экспрессии трансгена является одиночная вставка Т-ДНК в активной регионе генома [3]. Также знание сайта встраивания позволяет при помощи ПЦР выявить гомозиготные особи, которые иначе можно обнаружить только по расщеплению в потомстве, что позволяет сократить сроки отбора чистых линий.

Образцы с лучшими показателями планируется испытать на живых курах и культуре куриных клеток.

### Литература

1. Shabunin S. V., Vostroilova G. A., Grigoryeva N. A. et al. Interferons- $\alpha$  and - $\gamma$  in clinical veterinary practice in the prevention and treatment of infectious diseases in cattle and pigs (review) // *Agric. Sci. Euro-North-East*. 2022. Vol. 23 (1). P. 16–35.
2. Castro L. S., Lobo G. S., Pereira P. et al. Interferon-Based Biopharmaceuticals: Overview on the Production, Purification, and Formulation // *Vaccines*. 2021. Vol. 9 (4). P. 328.
3. Burlakovskiy M., Saveleva N., Rumyantsev A. M. et al. The Structure of T-DNA Insertions in Transgenic Tobacco Plants Producing Bovine Interferon-Gamma // *Appl. Sci*. 2022. Vol. 12 (2). P. 761.
4. Цыганков М. А., Зобнина А. Е., Падкина М. В. Синтез модифицированных, устойчивых к протеолитической деградации интерферонов-гамма в дрожжах *Pichia pastoris* // *Прикл. биохим. и микробиол.* 2014. Т. 50 (4). С. 429–436.
5. Chang K., Wang Q., Shi X. et al. Stepwise partially overlapping primer-based PCR for genome walking // *AMB Express*. 2018. Vol. 8 (1). P. 77.