

УДК 575.224:631

doi: 10.17223/19988591/18/5

Е.В. Дейнеко

Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск, Россия)

ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ РАСТЕНИЯ – ПРОДУЦЕНТЫ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Рассматриваются современные достижения в области использования генетически модифицированных растений для наработки рекомбинантных белков медицинского назначения. Сделан акцент на преимуществах использования систем экспрессии генетически модифицированных растений по сравнению с другими системами. На конкретных примерах обсуждаются перспективные растительные системы экспрессии для наработки рекомбинантных белков. Рассмотрено современное состояние рынка рекомбинантных белков с применением трансгенных растений. Обсуждаются перспективы создания «съедобных» вакцин, созданных на основе генетически модифицированных растений.

Ключевые слова: трансгенные растения; биопродуценты; рекомбинантные белки; «съедобные» вакцины.

Развитие и совершенствование методов молекулярной биологии, позволивших манипулировать с молекулами ДНК вне клетки, а также методов культивирования отдельных клеток с восстановлением из них целых растений привело к созданию нового направления в биологии – генетической инженерии растений. С помощью методов генетической инженерии стало возможным выделять гены, представляющие интерес, из любых организмов – вирусов, микроорганизмов, животных, человека – и переносить их в растения. Растения, в геном которых перенесены чужеродные гены (трансгены), приобретают статус генетически модифицированных, или трансгенных.

К настоящему времени ведущими биотехнологическими центрами мира модифицировано более 150 видов растений. Созданы трансгенные растения, устойчивые к гербицидам [1], насекомым-вредителям, вирусам и болезням [2], растения со сбалансированным составом аминокислот и измененным составом жирных кислот, декоративные растения с измененной пигментной окраской цветов. Крупнейшим успехом в области генетической инженерии является создание под руководством профессора И. Потрикуса (Швейцария) нового сорта риса, получившего название «Золотой». Особенность и достоинство этого риса – повышенное содержание провитамина А, железа и фолиевой кислоты [3]. Созданы трансгенные растения, пригодные для биодеградации полимеров, детоксикации тяжелых металлов, для очистки окружающей среды от различного рода загрязнений [4–5].

За последнее десятилетие значительно возрос интерес к трансгенным растениям как биопродуцентам различных белков медицинского назначения. При получении рекомбинантных белков актуальным остается вопрос поиска высокоэффективных и экономически выгодных систем экспрессии для их наработки. В настоящее время для наработки рекомбинантных терапевтических белков, субъединичных вакцин и рекомбинантных моноклональных антител используются бактерии, дрожжи, а также культуры клеток насекомых и млекопитающих. Каждая из этих систем имеет свои преимущества, однако эти системы не лишены и недостатков, связанных с посттрансляционными модификациями рекомбинантных белков, продолжительностью наработки продукта, ограниченным пролиферативным потенциалом, высокой стоимостью компонентов для поддержания культуры и т.д.

Новые перспективы получения рекомбинантных фармацевтических белков открываются с использованием генетически модифицированных растений. По оценкам зарубежных экспертов, трансгенные растения могли быть более дешевым и безопасным источником рекомбинантных белков по сравнению с традиционными системами экспрессии. Привлекательность растений в качестве систем экспрессии для накопления рекомбинантных фармацевтически ценных белков обеспечивается многими обстоятельствами. Прежде всего, в растительных тканях нет риска загрязнения рекомбинантного белка патогенами животного происхождения – вирусами и прионами. Растительные клетки обеспечивают правильную посттрансляционную модификацию рекомбинантного белка, характерную для эукариотических клеток, а также его сборку и фолдинг [6–7].

Экспрессированные в растительных клетках рекомбинантные белки могут быть направлены в различные компартменты растительной клетки (вакуоли или люмены эндоплазматического ретикулюма), а также в апопласт и различные органы растения (семена, клубни, плоды и т.д.). В растительных тканях рекомбинантные белки могут длительное время (месяцы и годы) сохраняться без каких-либо изменений и снижения биологической активности [8–11].

Новые методы агробιοлогического возделывания хозяйственно важных видов растений, а также системы семеноводства для той или иной культуры делают растения привлекательными для использования в качестве биофабрик белков медицинского назначения.

Не подвергаясь термообработке, растения могут использоваться в качестве готового продукта для профилактики и лечения заболеваний. Растения, в тканях которых синтезируются и накапливаются рекомбинантные бактериальные антигены, привлекательны для использования в качестве вакцин и получили специальное название – *съедобные вакцины* [12–17]. Более того, трансгенные растения представляют удобные модели для разработки новых альтернативных способов доставки (перорально и интраназально) рекомбинантных белков в организмы теплокровных.

Перспективные системы экспрессии для наработки рекомбинантных белков. К настоящему времени разработаны технологии получения генетически модифицированных (трансгенных) растений, в геном которых перенесены гены, кодирующие различные белки для медицинских целей, в том числе и белки человека. Такие технологии основаны на прямом или векторном переносе целевых генов в ядерный геном растения. К настоящему времени получены десятки видов трансгенных растений, в геном которых перенесены гены антигенов различных возбудителей инфекционных заболеваний, разнообразных терапевтических белков, моноклональных антител [8; 13–14]. Однако относительно невысокий уровень накопления целевых белков (менее 1% от общего растворимого белка – ОРБ) в тканях генетически модифицированных растений послужил отправной точкой для разработки новых систем экспрессии.

В качестве одной из таких альтернативных систем экспрессии рассматриваются **внеядерные геномы (пластомы) хлоропластов** растений. Получение транспластомных растений, т.е. растений, в хлоропластный геном которых будут перенесены чужеродные гены, сулит множество преимуществ по сравнению с ядерными трансформантами. Это высокая экспрессия перенесенных генов, возможность полицистронного регулирования, экологическая безопасность, связанная с отсутствием чужеродных генов в пыльце, отсутствие вариативности по экспрессии целевых генов, а также и отсутствие эффекта умолкания трансгенов у транспластомных растений. Однако необходимо подчеркнуть, что эти преимущества нивелируются большими проблемами, с которыми сталкиваются исследователи при попытках перенести гены в пластомы растений.

Мощным толчком к развитию технологии получения рекомбинантных белков на основе хлоропластного генома послужило сообщение о создании транспластомных растений табака с выходом целевого белка (Cry2Aa2-белок из *Bacillus thuringiensis*) на уровне 46,1% ОРБ [18]. На основе хлоропластных геномов в настоящее время интенсивно развиваются технологии создания транспластомных растений для многих видов – сои [19], хлопка [20], салата [21] и др. Всего к настоящему времени получено 15 видов транспластомных растений, у которых уровень накопления гетерологичных белков составил от 6% для интерферона-гамма и 19% для интерферона-альфа человека до 33% для инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) человека.

Среди других альтернативных систем экспрессии гетерологичных белков для фармакологии следует назвать ряску, мох, некоторые виды водорослей, а также клетки генетически модифицированных растений, культивируемые в суспензионной культуре.

Ряска (*Lemna gibba* – ряска горбатая и *L. minor* – ряска малая) – многолетнее растение, среда обитания которого – поверхности стоячих пресных вод. Ряска относится к цветковым растениям, но ее тело редуцировано и

представлено листовой пластинкой и корнем. Ряска является представителем однодольных покрытосеменных растений, и для переноса в ее геном чужеродных гетерологичных генов могут быть использованы системы агробактериальной трансформации и методы биобаллистики.

Ряска привлекает внимание исследователей как потенциальная высокоэффективная система экспрессии гетерологичных белков благодаря своей способности к быстрому накоплению биомассы, которая способна удваиваться в течение 24–48 ч. Генетически модифицированная ряска как потенциальный продуцент фармакологических белков может быть использована для употребления непосредственно в сыром виде или в виде высушенного продукта. При наличии в генетической конструкции соответствующих сигнальных последовательностей рекомбинантный белок может быть секретирован в культуральную среду [22]. Необходимо отметить, что моноклональные антитела человека, синтезированные в тканях ряски, проявляли более высокую активность при связывании с соответствующими рецепторами по сравнению с их гомологами, синтезированными в клетках СНО-линии клеток яичников китайских хомяков [23]. Близки к завершению работы по секвенированию хлоропластного генома ряски.

Зеленый мох (*Physcomitrella patens*) – единственный представитель мохообразных, геном которого полностью секвенирован [24]. Разработана методика трансформации *P. patens* [25]. Первым успешным примером использования этого вида мха в качестве системы экспрессии рекомбинантных белков является получение рекомбинантного человеческого эритропоэтина [26]. Фирма «Grenovation» (Германия) разрабатывает технологию наработки биофармацевтических белков на основе *P. patens* в клеточной суспензионной культуре с применением биореакторов.

Привлекательность этого вида мхов в качестве системы экспрессии рекомбинантных белков состоит в том, что по сравнению с растениями фрагменты экзогенных ДНК могут быть интегрированы в его геном по механизму гомологичной рекомбинации, что исключает возможное инактивирование в дальнейшем экспрессии перенесенных генов (трансгенов). *P. patens* рассматривается как перспективный кандидат на «молекулярное фермерство», поскольку в этой системе экспрессии белки эукариотического происхождения претерпевают посттрансляционную модификацию (гликозилирование, образование дисульфидных связей и т.д.). Если проводить сравнение белкового продукта, синтезируемого в клетках животных и в клетках *P. patens*, то последние имеют очевидное преимущество, поскольку отпадает проблема заражения культуры патогенами животного происхождения. Привлекательной стороной *P. patens* является еще и то, что его можно поддерживать в виде суспензионной культуры в контролируемых условиях [26, 28].

Одноклеточные зеленые водоросли (*Chlamydomonas reinhardtii*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica* и *Odontella aurita*) рассматриваются как перспективные альтернативные системы экспрессии рекомбинантных

белков [29–30]. Наиболее перспективным видом является *Chlamydomonas reinhardtii*, получение рекомбинантных белков у которого основано на трансформации хлоропластов [31]. Около 40% объема клетки этого растения занимает один хлоропласт большого размера. Первые генетически модифицированные водоросли на основе *C. reinhardtii* были получены в 1988 г. [32]. Интеграция фрагментов экзогенных ДНК в геном этой водоросли протекает по механизму гомологичной рекомбинации. Клеточные популяции водорослей гомогенны по размеру клеток, клеточная масса удваивается через каждые 4–8 ч культивирования [29]. Для культивирования *C. reinhardtii* возможно использование биореакторов больших объемов (до 500 тысяч литров); более того, способность секретировать белки в культуральную среду может существенно снизить стоимость рекомбинантного белка [33].

Суспензионные клеточные культуры на основе генетически модифицированных растений привлекают внимание исследователей как перспективные потенциальные системы для наработки фармацевтических белков. Такие культуры могут быть получены из рыхлых каллусных тканей, индуцированных из генетически модифицированных эксплантов, либо на основе кокультивирования клеточной суспензии и *Agrobacterium tumefaciens* [7, 34]. Следует подчеркнуть, что после оценки ростовых характеристик и отбора клеточных линий по способности накапливать рекомбинантные белки могут быть отобраны перспективные линии для культивирования в биореакторах.

Разрабатываются клеточные линии для наработки рекомбинантных белков для коммерческих целей на основе клеточных культур моркови и риса (например, компания «Protalix», Израиль) [14]. Широко используются для этих целей клеточные культуры табака [7, 35]. В 2006 г. в США фирме «Dow AgroSciences» была выдана лицензия на способ получения вакцины против возбудителя болезни Ньюкасла (псевдочума, азиатская чума кур) на основе суспензионной клеточной культуры табака [14]. Привлекательной особенностью клеточных культур как системы экспрессии для наработки рекомбинантных белков по сравнению с использованием для этого целых растений является то, что клеточные культуры можно унифицировать по ростовым характеристикам, размерам и типам клеток. Более того, клетки выращиваются в строго контролируемых условиях, при которых скорость накопления продукта не будет меняться от пассажа к пассажу.

Современное состояние рынка рекомбинантных белков медицинского назначения, полученных на основе генетически модифицированных растений. К настоящему времени число зарубежных фирм, связывающих свою деятельность с наработкой фармацевтических белков медицинского назначения на основе генетически модифицированных растений, составляет около пятнадцати [7, 8, 36]. Среди таких фирм следует отметить «Planet Biotechnology», «Dow AgroSciences», «Protalix Biotherapeutics», «Medicago», «Biolex», «Novoplant» и др. Деятельность этих фирм основана на использовании таких растений, как табак, люцерна, рис, подсолнечник, ячмень,

горох, кукуруза и *Arabidopsis thaliana*. Необходимо отметить, что большая часть наработок рекомбинантных белков основана на использовании генетически модифицированных растений с ядерной трансформацией, т.е. доставкой чужеродного гена в ядерный геном растения. Такие фирмы, как «Chlorogen» и «Bayer», для получения рекомбинантных белков используют транспластомные растения с доставкой чужеродного гена в хлоропластный геном растения, а также метод агроинфильтрации, основанный на транзиторной (временной) экспрессии чужеродных генов в растительных клетках.

Рассмотрим различные системы экспрессии рекомбинантных белков на основе генетически модифицированных растений с точки зрения качества и эффективности выхода рекомбинантного белка, используя для сравнения наработку такого белка, как апротинин. Апротинин (поливалентный ингибитор протеиназ) относится к антиферментным препаратам, представляет собой одноцепочечный полипептид, содержащий 58 аминокислот. Применяется в качестве препарата, оказывающего антипротеолитическое, антифибринолитическое и гемостатическое действие, используется в медицине более 40 лет. Источником апротинина являются органы (легкие и др.) крупного рогатого скота. Разработан способ получения рекомбинантного апротинина с использованием *Saccharomyces cerevisiae* [37]. На основании сравнительного анализа систем экспрессии на основе растительных клеток и тканей для наработки апротинина установлено, что в тканях табака при ядерной трансформации накапливалось 0,03% апротинина от ОРБ, в тканях люцерны – 0,1%, в семенах кукурузы – 8,9%, в тканях ряски – 3,7%, а в тканях табака при агроинфильтрации – 4,2% [8]. Рекомбинантный апротинин не отличался по качеству от соответствующего белка, выделенного из тканей крупного рогатого скота [8]. Такие фирмы, как «ProdiGene», «Medicago» и «Large Scale Biology Corporation», используют кукурузу, люцерну и табак для получения рекомбинантного апротинина для коммерческих целей.

Перспективы создания «съедобных» вакцин на основе генетически модифицированных растений. Впервые идея использования клеток растений для наработки рекомбинантных антигенов успешно была реализована в 1992 г. группой исследователей под руководством доктора Чарльза Арнтзена [38]. Было установлено, что поверхностный HBsAg-антиген вируса гепатита В не только накапливается в тканях трансгенных растений табака, но и способен к самосборке в вирусоподобные частицы размером около 22 нм. Такие частицы были идентичны рекомбинантным вирусоподобным частицам HBsAg-антигена, выделенным из промышленной рекомбинантной вакцины на основе дрожжей, а также вирусоподобным частицам из плазмы крови больных вирусом гепатита В. На основании полученных данных стало очевидным, что чужеродные белки способны синтезироваться в клетках трансгенных растений в их природной, иммунологически активной форме. Это открывало новые возможности использования растений как более дешевых систем экспрессии для создания рекомбинантных вакцин.

Следующим принципиальным шагом в разработке концепции «съедобных вакцин» на основе генетически модифицированных растений были работы по созданию трансгенных растений картофеля, продуцирующих термолабильный энтеротоксин из *E. coli* [39–40] и В-субъединицу холерного токсина [41].

Термолабильный энтеротоксин *E. coli* состоит из двух частей: LT-A (фермент) и LT-B (пентамер из рецептор-связывающих полипептидов). LT-B связывается с рецепторами ганглиозидов на поверхности мембраны эпителиоцитов тонкого кишечника млекопитающих и транспортирует LT-A в клетки кишечника. В эпителиоцитах LT-A вызывает изменение клеточного метаболизма и обезвоживание клеток. Если обе части термолабильного энтеротоксина отделить друг от друга, то презентация LT-B белкового комплекса на поверхности эпителиоцитов будет стимулировать сильный иммунный ответ слизистой оболочки кишечника без проявления каких-либо признаков заболевания. Именно эта особенность была положена в основу исследований группы Чарлза Арнтцена [39] по созданию «съедобных вакцин». Авторами было установлено, что LT-B, синтезируемый в трансгенных растениях табака и картофеля, а также LT-B, выделенный из *E. coli*, вызывают однотипные иммунные реакции у мышей.

В дальнейшем LT-B-последовательность была оптимизирована для экспрессии в растительных клетках и перенесена в геном растений картофеля [40–41]. В клубнях картофеля белок правильно собирался в олигомеры и накапливался в достаточно больших количествах. На основании клинических испытаний рекомбинантной LT-B-вакцины установлено, что поедание добровольцами сырых клубней картофеля, содержащих 0,3–10 мг LT-B, приводило к образованию мукозных и системных антител с высокими титрами [42].

Опираясь на проведенные к настоящему времени исследования, можно заключить, что съедобные вакцины на основе трансгенных растений способны вызывать защитный иммунитет, что открывает новые возможности на пути создания недорогих и простых в обращении вакцин против инфекционных болезней животных и человека. По данным В. Юсимова и соавт. [14, 15], около шести антигенов и антител (для пассивной иммунизации), полученных на основе генетически модифицированных растений, достигли 1-й и 2-й фаз клинических испытаний.

Механизм иммунизации съедобными вакцинами основан на антиген-представляющей способности перитонеальных макрофагов тонкого кишечника млекопитающих. В кишечнике чужеродный белок, обладающий антигенными свойствами, распознается специальными М-клетками, которые широко представлены в толще слизистого эпителия. М-клетки транспортируют захваченный антиген к перитонеальным макрофагам и В-лимфоцитам, находящимся в лимфоидных образованиях тонкого кишечника (пейеровых бляшках). В результате презентации антигена на поверхности антиген-представляющих клеток происходит активация Т-лимфоцитов-хэлперов, которые

в сочетании с антигеном активируют В-лимфоциты. Дифференцированные В-клетки выходят из лимфоидных фолликулов слизистой оболочки и поступают через общую циркуляцию в мезентральные лимфатические узлы, где происходит их созревание и превращение в плазматические клетки, синтезирующие специфические антитела. Плазматические клетки способны снова мигрировать к слизистым оболочкам дыхательных путей, желудочно-кишечного и мочеполового трактов. Секреторные иммуноглобулины IgA транспортируются на поверхность слизистых оболочек, где они связываются с чужеродными антигенами и препятствуют их проникновению в организм. Следует отметить, что мукозная вакцинация стимулирует как иммунный ответ слизистых оболочек – первого защитного барьера на пути патогенных агентов, так и общий иммунный ответ организма. Так, например, описана работа по изучению иммуногенности съедобной вакцины на основе трансгенных растений томатов, экспрессирующих HBsAg-антиген вируса гепатита В. Было показано, что при пероральном введении мышам гомогената плодов трансгенных растений томатов уровень антител в сыворотке крови возрастал после второго кормления и оставался высоким до конца эксперимента. Мукозный иммунный ответ формировался после первого кормления и оставался высоким в течение всего эксперимента [43].

Созданы трансгенные растения на основе многих видов, таких как табак, томаты, салат-латук, *Arabidopsis thaliana* и турнепс, в которые перенесены гены, контролирующие синтез различных антигенов и антител. В некоторых случаях антигены «сшивают» с другими белками для упрощения процедуры детекции продуктов целевого гена, например с геном β -глюкуронидазы (*uidA*). По активности фермента бета-глюкурнидазы можно легко определить уровень накопления целевого антигена в тканях генетически модифицированного растения.

Для медицинских целей растения используются человечеством уже тысячи лет. Однако только на рубеже XXI в. с помощью методов генетической инженерии стало возможным создавать новые типы растений, в тканях которых могут синтезироваться и накапливаться белки из различных гетерологичных систем. К настоящему времени созданы трансгенные растения, в ядерный и хлоропластный геномы которых перенесены гены, контролирующие синтез соответствующих рекомбинантных белков, важных в терапии различных заболеваний. Благодаря развитию методов генетической инженерии в последние 20 лет открылись новые перспективы создания вакцин нового поколения. Возможность изолировать гены патогенных вирусов и бактерий, а также манипулировать ими и переносить в геномы других организмов (например, в геномы растений) привела к созданию новых генетически модифицированных организмов, у которых накапливаемый в тканях белок-антиген служит «опознавательным знаком» патогена и сам по себе не способен вызывать болезнь. Более десятка зарубежных фирм используют растительные системы экспрессии для наработки рекомбинантных белков,

в том числе и белков-антигенов различных возбудителей инфекционных заболеваний.

Результаты исследования были представлены автором на Международной молодежной научной школе «Пищевые технологии и биотехнологии» (Томск, 18–22 июня 2012 г.), организованной ФГБ ОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 годы» (ГК № 12.741.11.0112 от 14 мая 2012 г.).

Литература

1. Clemente T.E., La Vallee B.J., Howe A.R. et al. Progeny analysis of glyphosate selected transgenic soybean derived from Agrobacterium-mediated transformation // Crop Science. 2000. № 40. P. 797–803.
2. Campbell M., Fitzgerald H., Ronald P. Engineering pathogen resistance in crop plants // Transgenic Research. 2002. Vol. 11. P. 599–613.
3. Potricus I. Golden rice and beyond // Plant Physiology. 2001. Vol. 125, № 3. P. 1157–1161.
4. Peuke A.D., Rennenberg H. Phytoremediation // EMBO Rep. 2005. Vol. 6. P. 497–501.
5. Peuke A.D., Rennenberg H. Phytoremediation with transgenic trees // Z. Naturforsch. 2005. Bd. 60, № 3/4. S. 199–207.
6. Fischer R., Schilberg S., Hellwig S. et al. GMP issues for recombinant plant-derived pharmaceuticals proteins // Biotechnology Advances. 2012. Vol. 30. P. 434–439.
7. Martinez 2 C.A., Guilietti A.M., Talou R. Research advances in plant-made flavi-virus antigens // Biotechnology Advances. 2012. Doi:10.1016/j.biotechadv.2012.03.004.
8. Sourrouille C., Marshall B., Lienard D., Faye L. From Neanderthal to Nanobiotech: From Plant Potions to Pharming with Plant Factories. In Book: Methods in Molecular Biology: Recombinant Proteins From Plants / ed. by L. Faye, V. Gomord. Humana Press, a part of Springer Science+Buisness Media, 2009. P. 1–23.
9. Parvaiz A., Muhammad A., Muhammad Y. et al. Role of transgenic plants in agriculture and biopharming // Biotechnology Advances. 2012. Vol. 30. P. 524–540.
10. Obeme O., Popoola J., Leelavathi S., Reddy S. Advances in plant molecular farming // Biotechnology Advances. 2011. Vol. 29. P. 210–222.
11. Paul M., Ma J. Plant-made pharmaceuticals: Leading products and production platforms // International Union of Biochemistry and Molecular Biology, Inc. 2011. Vol. 58, № 1. P. 58–67.
12. Paul M., Dolleweerd C., Drake P., Ma J. Molecular pharming: Future targets and aspirations // Human Vaccines. 2011. Vol. 7, № 3. P. 375–382.
13. Rybicki E.P. Plant-produced vaccines: promise and reality // Drug Discovery Today. 2008. Vol. 13. P. 894–901.
14. Yusibov V., Rabindran S. Resent progress in the development of plant-derived vaccines // Expert Reviews of Vaccines. 2008. Vol. 7. P. 1173–1183.
15. Yusibov V., Streatfield S., Kushnir N. Clinical development of plant-produced recombinant pharmaceuticals // Human Vaccines. 2011. Vol. 7, № 3. P. 313–321.
16. Tecson Mendoza E.M., C.L.A. et al. Recent advances in the development of transgenic papaya technology // Biotechnology Annual Review. 2008. Vol. 14. P. 423–462.
17. Penney C., Thomas D., Deen S., Walmsley A. Plant-made vaccines in support of the Millenium Development Goals // Plant Cell Reports. 2011. Vol. 30. P. 789–798.

18. DeCosa B., Moar W., Lee S.B. Hyper-expression of the Bt Cry-2 Aa2 operon in chloroplast leads to formation of insecticidal crystals // *Nature Biotechnology*. 2001. Vol. 19. P. 71–74.
19. Dufourmantel N., Tiscot G., Goutorbe F. Generation of fertile transplastomic soybean // *Plant Molecular Biology*. 2004. Vol. 55. P. 479–489.
20. Kumar S., Daniel H. Transgenic containment by maternal inheritance: effective or elusive // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007. Vol. 1104. P. 6879–6880.
21. Lelivelt C., McCabe M., Newell C. Stable plastid transformation in lettuce (*Lactuca sativa* L.) // *Plant Molecular Biology*. 2005. Vol. 58. P. 763–774.
22. Gasdaska J.R., Spencer D., Dickey L.F. Advantages of therapeutic protein production in the aquatic plant *Lemna* // *Bioprocessing J*. 2003. Vol. 3. P. 50–56.
23. Cox K.M., Sterling J.D., Regan J.T. Glycan optimization of a human monoclonal antibody in the aquatic plant *Lemna minor* // *Nature Biotechnology*. 2006. Vol. 24. P. 1591–1597.
24. Reinsing S., Lang D., Knight C. The Physcomitrella Genome Evolutionary Insights into Land by Plants // *Science*. 2008. Vol. 319. P. 64–69.
25. Schaefer D., Zryd J.P., Knight C.D., Cove D.J. Stable transformation of the moss *Physcomitrella patens* // *Molecular and General Genetics*. 1991. Vol. 226. P. 418–424.
26. Weise A., Altmann F.M., Rodriguez-Franco M. High level expression of secreted complex glycosylated recombinant human erythropoietin in the Physcomitrella delta-fuc-t and delta-xyl-t mutant // *Plant Biotechnology J*. 2007. Vol. 5. P. 389–401.
27. Fischer R., Twyman R.M., Schillberg S. Production of antibodies in plants and their use for global health // *Vaccine*. 2003. Vol. 21. P. 821–825.
28. Koprivova A., Stemmer C., Altmann F. Targeted knockouts of Physcomitrella lacking plantspecific immunogenic N-glycans // *Plant Biotechnology J*. 2004. Vol. 2. P. 517–523.
29. Franklin S.E., Mayfield S.P. Prospects for molecular farming in the green algae *Chlamydomonas* // *Current Opinion in Plant Biology*. 2004. Vol. 7. P. 159–165.
30. Merchant S.S., Prochnik S.E., Vallon O. The Chlamydomonas genome reveals the evolution of key animal and plant functions // *Science*. 2007. Vol. 318, № 5848. P. 245–250.
31. Leon-Banares R., Gonzalez-Ballester D., Galvan A., Fernandez E. Transgenic algae as green cell-factories // *Trends Biotechnology*. 2004. Vol. 22. P. 45–52.
32. Boynton J.E., Gilham N.W., Harris S.E. Chloroplast transformation in *Chlamydomonas* with high velocity microprojectiles // *Science*. 1988. Vol. 240. P. 1534–1538.
33. Franklin S.E., Mayfield S.P. Expression of human antibodies in eukaryotic micro-algae // *Vaccine*. 2005. Vol. 23. P. 1928–1832.
34. Hellwig S., Drossard J., Fisher R. Plant cell culture for the production of recombinant proteins // *Nature Biotechnology*. 2004. Vol. 22. P. 1415–1422.
35. Lienard D., Tran Ding O., van Oort M. Suspension-culture BY-2 tobacco cells produce and mature immunologically active house dust mite allergens // *Plant Biotechnology J*. 2007. Vol. 5. P. 93–108.
36. Tiwari S., Verma P.C., Singh P.K., Tuli R. Plants as bioreactors for the production of vaccines and antigens // *Biotechnology Advances*. 2009. Vol. 27. P. 449–467.
37. Apeler H., Peters J., Schroder W. Expression, purification, biochemical and pharmacological characterization of a recombinant aprotinin variant // *Drug Res*. 2004. Vol. 54, № 8. P. 483–497.
38. Mason H.S., Lam D.M., Arntzen C.J. Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic plants // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1992. Vol. 89. P. 11745–11749.
39. Haq T.A., Mason H.S., Clements J.D., Arntzen C.J. Oral immunization with a recombinant bacterial antigen produced in transgenic plants // *Science*. 1995. Vol. 268. P. 714–719.

40. Mason H.S., Haq T.A., Clements J.D., Arntzen C.J. Edible vaccine protects mice against *Echerichia coli* heat-labile enterotoxin (LT): potatoes expressing a synthetic LT-B-gene // *Vaccine*. 1998. Vol. 16. P. 1336–1343.
41. Arakawa T., Chong D.K.X., Langridge H.R. Efficacy of food plant-based oral cholera toxin B subunit vaccine // *Nature Biotechnology*. 1998. Vol. 16. P. 292–297.
42. Tacket C.O., Mason H.S., Losonsky G., Estes M.K., Arntzen C.J. Human immune responses to a novel Norwalk virus vaccine delivered in transgenic potatoes // *J. Infectious Diseases*. 2000. Vol. 182. P. 302–305.
43. Schelkunov S.N., Salyaev R.K., Pozdnyakov S.G. et al. Immunogenicity of a novel, bivalent, plant-based oral vaccine against hepatitis B and human immunodeficiency viruses // *Biotechnology Letters*. 2006. Vol. 28, № 13. P. 959–967.

Поступила в редакцию 29.05.2012 г.

Tomsk State University Journal of Biology. 2012. № 2 (18). P. 41–51

doi: 10.17223/19988591/18/5

Elena V. Deineko

*Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian
Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

TRANSGENIC PLANTS AS BIOREACTORS OF PHARMACEUTICALS RECOMBINANT PROTEINS

This review describes recent advances in the use of genetically modified plants for production of recombinant proteins for pharmaceutical use. Emphasis on the benefits of use the expression of genetically modified plants compared to other systems. In the specific examples discussed in forward-looking plant expression systems for production of recombinant proteins. The current state of the market of recombinant proteins using transgenic plants. The prospects of creating “edible” vaccines that are based on genetically modified plants.

Key words: *transgenic plants; bioproducents; recombinant proteins; “edible” vaccines.*

Received May 29, 2012