

ЛАБОРАТОРИЯ ГЕНЕТИКИ РАЗВИТИЯ

Иммунофлуоресцентное окрашивание ткани лактирующей молочной железы

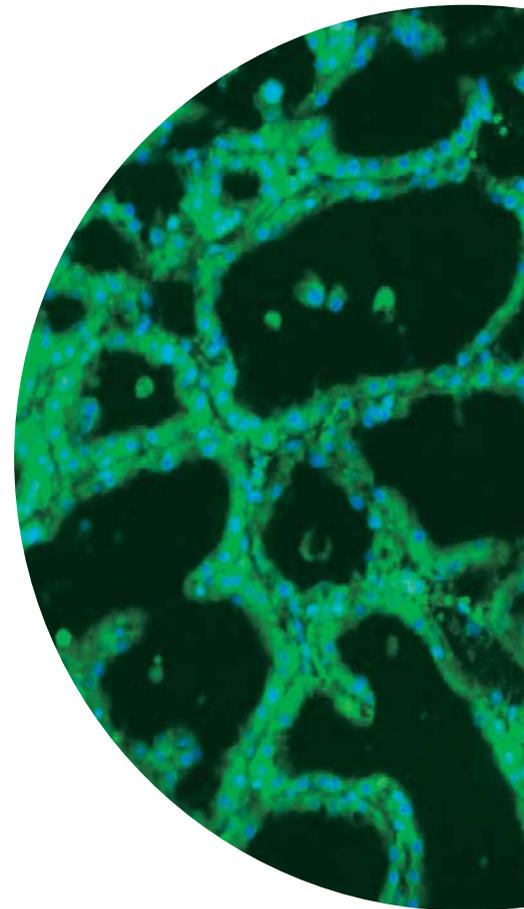
Продукция фармакологически ценных белков человека в молоке трансгенных животных — одно из перспективных направлений современной биотехнологии. Стратегия создания сельскохозяйственных молочных животных в качестве биореакторов основана на введении в геном животных рекомбинантных генетических конструкций, содержащих последовательности генов человека, кодирующих биологически активные белки, управляемые регуляторными элементами одного из «генов молока»: альфа- и бета-казеинов, бета-лактоглобулина и альфа-лактоальбумина. Согласно этой стратегии такие трансгенные животные способны синтезировать на высоком уровне белок человека исключительно в молочной железе и секретировать его в молоко, которое в свою очередь становится источником для выделения белка человека.

Учитывая длительность репродуктивного периода большинства с.-х. животных, потенциальных продуцентов лекарственных белков человека, и дороговизну экспериментов на них, тестирование генно-инженерных конструкций осуществляют на трансгенных мышах, что позволяет достаточно быстро отобрать из них наиболее перспективные с учетом уровня продукции требуемого белка, его биологической активности и тканеспецифичности экспрессии. В лаборатории созданы конструкции с генами важнейших гемопоэтических факторов человека: гранулоцит-колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) и гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) под контролем 5'-регуляторной области гена α -S1-казеина козы.

Полноразмерные гены, кодирующие белки Г-КСФ и ГМ-КСФ человека, были синтезированы путем амплификации геномной ДНК человека. 5'-регуляторная область гена α -S1-казеина козы размером 3387 п.н. была синтезирована с помощью амплификации геномной ДНК козы. Данный фрагмент включает все известные регуляторные сайты, охарактеризованные к настоящему времени (Ramunno et al., 2004). 3'-нетранслируемая область гена α -S1-казеина коровы имела длину 1514 п.н. Рекомбинантная ДНК обеих конструкций была инъецирована в пронуклеус зигот мыши. В каждой экспериментальной группе было получено по 4 трансгенных потомка. От каждого из основателей были получены линии трансгенных мышей. Показано, что наследование обоих трансгенов в ряду поколений носит менделевский характер. ОТ-ПЦР и иммунофлуоресцентный анализ свидетельствуют о тканеспецифичности экспрессии трансгенов. Уровень экспрессии рекомбинантных белков составляет от 10 мкг/мл до 100 мкг/мл у разных линий экспериментальных животных. Рекомбинантный Г-КСФ присутствует в двух формах — гликозилированной и негликозилированной. В тесте с культурой клеток пуповинной крови человека Г-КСФ, полученный из молока трансгенных мышей, стимулировал развитие кровяных колоний нейтрофильного ряда, показав более высокую биологическую активность. Таким образом, полученные конструкции могут быть рекомендованы для получения трансгенных коз-продуцентов ценных белков человека, таких, как Г-КСФ и ГМ-КСФ.



Серов Олег Леонидович
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией



Иммунофлуоресцентное окрашивание ткани лактирующей молочной железы (зеленый цвет) трансгенной самки на ГМ-КСФ человека (голубой цвет) (x200)