Streszczenie

Uzyskiwanie białek o znaczeniu biomedycznym, w tym antygenów z materiału roślinnego, jest obiecującą alternatywą dla bakteryjnych i drożdżowych systemów ekspresji. Jednak stosowanie roślin transgenicznych często wiąże się z problemem niedostatecznej ekspresji i problemami legislacyjnymi. Ponadto stosowanie doustnych szczepionek pochodzenia roślinnego napotyka barierę niewystarczającej odpowiedzi immunologicznej, w tym tolerancji pokarmowej. Proponowanym i obecnie testowanym rozwiązaniem wspomnianych problemów jest stosowanie oczyszczonych białek, jako szczepionek iniekcyjnych oraz liofilizowanego materiału roślinnego w postaci doustnej.

W wyniku wcześniejszych prac uzyskano odporne na herbicydy linie transgenicznych roślin sałaty stabilnie wytwarzające poszczególne białka HBV, w tym antygen rdzeniowy HBcAg (Hepatitis B core Antigen). W projekcie wykorzystano wcześniej pozyskane rośliny transgeniczne oraz rośliny po agroinfiltracji - jednej z metod przejściowej ekspresji zoptymalizowanej dla tego konkretnego białka.

Technologia przejściowej ekspresji jest obiecującą metodą otrzymywania dużych ilości biofarmaceutyków przy stosunkowo niskich kosztach. Wektory użyte do przejściowej ekspresji umożliwiają skuteczną replikację i transkrypcję wprowadzonego genu do komórek gospodarza oraz wysoki poziom ekspresji białka. W badaniach wykorzystano wektory, głównie oparte na plazmidzie pEAQ otrzymanym od prof. G. P. Lomonossoff'a (John Innes Centre, Wielka Brytania). Wektory te umożliwiają wydajną ekspresję antygenów HBV - zwłaszcza HBcAg, oraz cząstek chimerycznych z przyłączonymi epitopami antygenu powierzchniowego HBV i innych białek w roślinie *Nicotiana benthamiana*.

Antygeny pochodzące z roślin transgenicznych i po przejściowej ekspresji oczyszczono za pomocą zoptymalizowanej procedury. Przetestowano kilka metod fizycznego oczyszczania cząstek z ekstraktu roślinnego. W wyniku tych badań opracowano metodę oczyszczania cząstek do analiz mikroskopowych, w tym w mikroskopie elektronowym. Ostatnim etapem projektu jest weryfikacja immunogenności otrzymanych preparatów w modelu zwierzęcym. Wyniki eksperymentów na myszach wskazują na wysoką immunogenność otrzymanych cząstek, porównywalną z komercyjnymi preparatami oraz ich zdolność do aktywacji immunologicznej odpowiedzi komórkowej i humoralnej.

Dodatkowo oczyszczone cząstki kapsydopodobne pochodzące z przejściowej ekspresji zostały wykorzystane, jako składnik bionanocząstek w pracach prowadzonych wspólnie z zespołem prof. Michaela Giersiga w Centrum Zaawansowanych Technologii UAM. Cząstki kapsydopodobne HBcAg wykazują zdolność do enkapsulacji funkcjonalizowanych nanocząstek tlenku żelaza, a możliwość modyfikacji powierzchni cząstki wskazuje na ich potencjalne wykorzystanie do organo-specyficznego kierowania nanocząstek m.in. do obrazowania czy terapii przeciwnowotworowych.