

## **Expression rekombinanter Proteine in embryogenen Kulturen der Lärche (*Larix decidua*)**

Robert Boehm<sup>1</sup> und Kurt Zoglauer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Molekulare Physiologie und Biotechnologie der Pflanzen (IMBIO), Universität Bonn, Karlrobert Kreiten-Str. 13, 53115 Bonn

<sup>2</sup>Institut für Biologie der Humboldt-Universität Berlin, AG Angewandte Botanik, Labor für Pflanzliche Zell und Gewebekultur, Invalidenstr. 42, 10115 Berlin

Der Bedarf an rekombinanten protein.basierten Therapeutika steigt in den kommenden Jahren stark an, daher auch der Bedarf an Produktionssystemen, die große Mengen an rekombinanten Proteinen biologisch aktiv und zu einem tragbaren Preis herstellen können. Pflanzliche Zellkulturen haben eine gute Chance, ihren Beitrag als neuartige Produktionssysteme zur Lösung des Problems beitragen zu können. Verschiedene pflanzliche Zellkulturen werden am IMBIO auf ihre Verwendbarkeit als rekombinantes Produktionssystem getestet. Embryogene Kulturen der Lärche (*Larix decidua*) stellen aus direkter somatischer Embryogenese hervorgegangene somatische Embryonen dar, die in ihrer Entwicklungsphase durch Auxin im Medium arretiert werden können und dabei eine hohe Proliferationsrate zeigen. Die Verdopplungszeit der Biomasse in der Suspensionskultur liegt bei 2-3 Tagen. Die effektive Transformierbarkeit via *Agrobacterium tumefaciens* konnte demonstriert werden. Neben diesen guten Voraussetzungen ist vor Allem eine hohe Ausbeute an rekombinantem Protein wichtig, um mit existierenden Produktionssystemen konkurrieren zu können. Diese wird von der Expressionshöhe des Gens und der Stabilität der Proteine im Medium bedingt. Transgene Linien, die das *gus*-Reportergen unter der Kontrolle des CaMV35S-Promotors exprimieren, zeigen eine im Vergleich zu Tabak zehnfach geringere Proteinexpression, die weit unterhalb kommerziell sinnvoller Proteinausbeuten liegt. Verschiedene Strategien zur Steigerung der Produktionsmenge, wie die Verwendung anderer konstitutive oder induzierbare Promotoren oder die Verwendung von Matrix-attachment-Sequenzen, sind in Planung. Erste Ergebnisse werden präsentiert. Hinsichtlich der Proteinstabilität im Medium wurde konditioniertes MSG-Medium auf Protease-Aktivität überprüft. Es konnte eine schwache Aktivität nachgewiesen werden, die jedoch bis zum Zehnfachen geringer ist als in etablierten Tabak-Suspensionskulturen. Die Proteinstabilität wurde durch Zusatz von IgG zu konditioniertem Medium getestet. Ein durchschnittlicher Abbau von 13 % des Proteins pro Tag konnte nachgewiesen werden. Der Zusatz von kompatiblen Soluten oder PVP zum Medium führte zu einer deutlich erhöhten Stabilität des zugesetzten Proteins. Weitere Versuche sind geplant, um die Proteinausbeute im System der embryogenen Lärchenkulturen zu erhöhen.