

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU⁽¹¹⁾ 2012 114 003⁽¹³⁾ A

(51) МПК
A01H 4/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2012114003/10, 12.08.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
11.09.2009 US 61/241,613

(43) Дата публикации заявки: 20.10.2013 Бюл. № 29

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 11.04.2012

(86) Заявка РСТ:
GB 2010/001537 (12.08.2010)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/030083 (17.03.2011)

Адрес для переписки:
109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент"

(71) Заявитель(и):

ИМПЕРИАЛ ИННОВЕЙШЕНС
ЛИМИТЕД (GB)

(72) Автор(ы):

МИШУ Франк (FR),
НИКСОН Питер (GB),
МАККАРТИ Джеймс Жерар (FR)

A

(54) СПОСОБ

(57) Формула изобретения

1. Способ получения лиственной биомассы из недифференцированных растительных клеток, который включает получение недифференцированных растительных клеток, их контакт с агентом, стимулирующим дифференцировку клеток в лиственную ткань, и выращивание клеток в культуральной системе с временным погружением в жидкость.

2. Способ по п.1, в котором растительные клетки представляют собой клетки из однодольного или двудольного растения.

3. Способ по п.2, в котором двудольное растение является любым из табака, томата, картофеля, фасоли, сои, моркови, маниоки или *Arabidopsis*.

4. Способ по п.2, в котором однодольное растение является любым из кукурузы, ржи, овса, проса, сахарного тростника, сорго, маиса, пшеницы или риса.

5. Способ по п.1, в котором растительные клетки являются клетками лекарственного растения, в котором основной лекарственный продукт продуцируется в листьях.

6. Способ по п.5, в котором растение является любым из числа *Atropa* sp, *Hyoscyamus* sp, *Datura* sp, *Papaver* sp, *Scopolia* sp, *Digitalis* sp, *Macuna* sp, *Taxus* sp, *Camptotheca* sp, *Cephaelotaxus* sp, или *Catharanthus* sp. *Artemisia* sp, таким как *Artemisia annua*.

7. Способ по п.1, в котором растение является энергетической сельскохозяйственной культурой.

8. Способ по п.7, в котором растение является любым из числа *Miscanthus* sp, *Jatropha* sp, *Panicum* sp, ивы, пальмовых, маиса, маниоки или тополя.

R U 2 0 1 2 1 1 4 0 0 3

R U 2 0 1 2 1 1 4 0 0 3

9. Способ по п.1, в котором агент, который стимулирует дифференцировку клеток в лиственную ткань, является растительным гормоном, предпочтительно цитокинином.

10. Способ по п.9, в котором цитокинин является любым природным или искусственным цитокинином, принадлежащим к типу аденина или типу фенилмочевины.

11. Способ по п.10, в котором цитокинин является любым из числа аденина, кинетина, зеатина, 6-бензиламинопурина, дифенилмочевины, тидаизурона (TDZ) и их соответствующих производных, которые обладают активностью цитокинина.

12. Способ по п.9, в котором цитокинин является тидаизуроном (TDZ).

13. Способ по п.1, в котором агент используют в комбинации с другим растительным гормоном, таким как ауксин.

14. Способ по п.1, в котором агент добавляют в культуральную среду в концентрации от 0,01 до 100 мкмоль/л, предпочтительно от 0,1 до 10 мкмоль/л.

15. Способ по п.1, в котором агент добавляют в начале или в процессе культивирования с временным погружением в жидкость.

16. Способ по п.1, в котором время погружения варьирует от 1 до 30 минут через каждые 2-24 часа, предпочтительно от 1 до 10 минут, каждые 2-6 часа.

17. Способ по п.1, в котором объем жидкости в культуре, временно погруженной в жидкость, составляет от 1 до 10000 литров, предпочтительно от 1 до 5000 литров, более предпочтительно от 1 до 1000 литров, наиболее предпочтительно от 1 до 500 литров.

18. Способ по п.1, в котором объем резервуара, который содержит культуральную систему с временным погружением в жидкость, составляет от 1 до 10000 литров, предпочтительно от 1 до 5000 литров, более предпочтительно от 1 до 1000 литров, наиболее предпочтительно от 1 до 500 литров.

19. Способ по п.1, в котором растительные клетки не являются генетически модифицированными.

20. Способ по любому из пп.1-19, в котором растительные клетки являются генетически модифицированными, например, чтобы экспрессировать полипептид.

21. Способ получения полипептида в растительных клетках *in vitro*, который включает: получение недифференцированных растительных клеток, содержащих хлоропласти, которые несут трансгенную молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, где растительные клетки демонстрируют гомопластомию; и

размножение клеток, полученных согласно способу по п.1 с образованием лиственной биомассы, содержащей полипептид.

22. Способ по п.21, в котором стадия получения недифференцированных клеток, где растение является транспластомным растением, включает:

введение молекулы трансгенной нуклеиновой кислоты в хлоропласт растительной клетки;

стимулирование растительной клетки, которая содержит молекулу трансгенной нуклеиновой кислоты, с образованием каллюса недифференцированных клеток; и
размножение каллюса в условиях, эффективных для достижения гомопластомии.

23. Способ по п.21, в котором гомопластомия достигается с помощью селекции антибиотиком, например, селекции спектиномицином, стрептомицином или канамицином.

24. Способ по п.21, в котором количество доступного света и/или количество доступной сахарозы регулируется с целью оптимизации выработки полипептида.

25. Способ по п.21, дополнительно включающий получение полипептида из лиственной биомассы.

26. Способ по любому из пп.21-25, в котором полипептид представляет собой любой из числа терапевтического полипептида, фермента, фактора роста, иммуноглобулина, гормона, структурного белка, белка, вовлеченного в стрессовую реакцию растения,

биофармацевтическим препаратом или антигеном, используемым для вакцины.

27. Полипептид, полученный с использованием способа по любому из пп.21-26 или полученный после переработки лиственной биомассы, полученной согласно способу по любому из пп.1-20.

28. Лиственная биомасса, полученная согласно способу по любому из пп.1-20.

29. Способ получения компонента, присутствующего в лиственной биомассе, который включает производство лиственной биомассы согласно способу по любому из пп.1-20, и получение компонента из лиственной биомассы.

30. Способ по п.29, в котором компонент получают путем выделения из лиственной биомассы или путем экстракции из лиственной биомассы, например, путем измельчения лиственной биомассы, чтобы освободить компонент.

31. Способ по п.29, в котором компонент представляет собой лекарственный продукт, рекомбинантно экспрессированный полипептид, углевод, липид, масло, летучее ароматическое соединение, антиоксидант, пигмент, вкусовое вещество или предшественник вкусового вещества; и в котором компонент может быть или эндогенным, или экзогенным.

32. Способ по любому из пп.29-31, в котором компонент перерабатывают в дополнительный продукт, например, биотопливо, продукт питания или лекарственный продукт.

33. Система получения полипептида в растительных клетках *in vitro*, которая включает:

агент, стимулирующий дифференцировку клеток в лиственную ткань; и молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, которая приспособлена для введения и экспрессии в хлоропластах.

34. Способ фиксации диоксида углерода, который заключается в осуществлении способа по любому из пп.1-20.

35. Способ очистки образца, в котором очищаемый образец подвергают воздействию лиственной биомассы, полученной согласно способу по любому из пп.1-20.

36. Способ по п.35, где в процессе очистки может быть удален один или несколько токсинов.

37. Способ получения фармацевтической композиции, который включает составление смеси из компонента, полученного согласно способу по любому из пп.29-31, и фармацевтически приемлемого разбавитель носителя, наполнитель или носитель.

38. Фармацевтически продукт, содержащий компонент, полученный согласно способу по любому из пп.30-32, и фармацевтически приемлемый разбавитель носителя, наполнитель или носитель.

39. Способ получения биотоплива, который включает ферментацию или трансэтерификацию компонента, полученного согласно способу по любому из пп.29-31.

40. Биотопливо, полученное согласно способу по п.39.