

Hairy root cultures as a source of biologically active substances of medicinal plants

Erst A.¹, Zheleznichenko T.², Badulina A.³

Культура *hairy root* как источник получения биологически активных веществ лекарственных растений

Эрст А. А.¹, Железниченко Т. В.², Бадулина А. А.³

¹Эрст Анна Алексеевна / Erst Anna Alekseevna – кандидат биологических наук, научный сотрудник;

²Железниченко Татьяна Витальевна / Zheleznichenko Tatiana Vitalyevna – кандидат биологических наук, научный сотрудник,

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Сибирское отделение Российской академии наук

Центральный сибирский ботанический сад (ФГБУН СО РАН), г. Новосибирск;

³Бадулина Анна Александровна / Badulina Anna Aleksandrovna – кандидат биологических наук, техник,

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение Высшего образования

Национальный исследовательский Томский государственный университет (ФГАОУ ВПО НИИ), г. Томск

Аннотация: показана возможность и перспективность применения технологии *hairy root* для получения биологически активных веществ лекарственных растений. Авторами предлагается новый подход отбора линий *hairy root* лекарственных растений с высоким уровнем биосинтеза.

Abstract: the possibilities and prospects of using hairy root technology to produce biologically active substances of medicinal plants were described. Authors proposed a new approach of selection hairy root lines of medicinal plants with high levels of biosynthesis.

Ключевые слова: культура *hairy root*, биосинтез БАВ, лекарственные растения.

Keywords: hairy root cultures, the biosynthesis of biologically active substances, medicinal plants.

В связи с высокой биологической активностью вторичные метаболиты растений используются на протяжении веков в традиционной медицине. В настоящее время они используются как компоненты в фармацевтике, косметологии, агрохимии. Растения синтезируют множество стероидных соединений, присущих как животному миру (холевые кислоты, кортикоиды, экдистероиды, половые гормоны), так и свойственные только растительному (сердечные гликозиды, витанолиды, сапонины, брассиностероиды). Наиболее широко распространены в мировой флоре – экдистероиды, которые являются аналогами гормонов линьки и метаморфоза насекомых. В настоящее время фитоэкдистероиды (экдистероиды растений) обнаружены во многих растениях и в довольно высоких концентрациях. Выделены и установлены структуры более 400 экдистероидов, в том числе и из растений семейства *Caryophyllaceae* Juss [1].

В настоящее время по литературным данным экдистероиды обнаружены более чем в 150 видах рода *Silene* L., 12 - в *Lychnis* L. и ряд видов в других родах [2, 3]. Ни в одном из других семейств не выявлено такое множество экдистероидсодержащих видов. Наиболее часто встречающимися являются 20-гидроксиэкдизон (20E), полиподин В (Пв), 2-дезоксипроизводные 20E, экдизона (Е), витикостерона Е, интегристерона А. Вследствие широкого спектра биологической активности экдистероидов интерес к этой группе вторичных метаболитов не ослабевает. Поиск растительных продуцентов, получения биомассы для изучения процессов метаболизма с помощью альтернативных биотехнологических методов, в том числе технологии *hairy roots*, интенсивно развиваются.

Технология *hairy roots* – культура изолированных корней лекарственных растений, полученная при помощи почвенной бактерии *Agrobacterium rhizogenes*. Это устойчивая биотехнологическая система, которая сохраняет клеточную и тканевую специализацию, что важно для поддержания и воспроизведения постоянного уровня биосинтеза вторичных метаболитов, способная к росту без использования экзогенных регуляторов роста. Такие генетически и биохимически стабильные культуры позволяют продуцировать биомассу корней с высоким уровнем биосинтеза вторичных метаболитов, часто превышающим их уровень в интактных растениях или других системах *in vitro* [4].

По данной теме проводятся совместные исследования в лабораториях Биотехнологии ЦСБС СО РАН (Новосибирск), Фитохимии СБС ТГУ (Томск) и отделе Биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси (Минск). Для усиления биосинтеза вторичных метаболитов применяют различные приемы. Большая часть исследований, посвященная усилению биосинтеза вторичных метаболитов в культуре *in vitro*, связана с эмпирическим подбором факторов воздействия на продукцию этих веществ (элиситоры, предшественники биосинтеза) или с длительным отбором линий-гиперпродуцентов, что является малоэффективным и требует глубокой теоретической проработки. Известны лишь немногие примеры успешного направленного усиления биосинтеза вторичных метаболитов растений в культуре *in vitro*: берберин [5], шиконин [6], розмариновая кислота [7], таксол [8], 20-гидроксиэкдизон [9]. В настоящее

время для изучения процессов, происходящих в клетке в культуре *in vitro*, применяются протеомные методы исследования. Так, изучение белковых профилей растений связано с выявлением ключевых белков, включенных в процесс дифференциации и дедифференциации *in vitro* с целью направленно регулировать этот сложный морфофизиологический процесс [10, 11]. Только комплексные исследования в области протеомики, метаболомики, молекулярной биологии с привлечением математических методов для построения метаболических моделей лекарственных растений позволят развить это перспективное направление. В этой связи изучение взаимосвязи пептидных профилей как показателя эффективности экспрессии ферментов, отвечающих за биосинтез вторичных метаболитов и характера метаболомного ответа (биосинтеза экидистероидов) у экидистероидсодержащих видов р. *Silene*, является новым перспективным подходом.

Проведенные нами исследования свидетельствуют о возможности использования культуры *hairy root* представителей р. *Silene* как потенциального источника получения БАВ и о перспективности дальнейших исследований с целью получения линий лекарственных растений с высоким уровнем биосинтеза БАВ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 15-54-04083 Бел_мол_а.

Литература

1. Лафон Р. Фитоэкидистероиды и мировая флора: разнообразие, распределение, биосинтез и эволюция // Физиология растений. 1998. Т. 45. № 3. С. 326–346.
2. Зибарева Л. Н. Фитоэкидистероиды растений семейства *Caryophyllaceae*. Автореф. дис... док. хим. наук, Новосибирск, 2003. 31 с.
3. Zibareva L., Yeriomina V. I., Munkhjargal N., Girault J.-P., Dinan L., Lafont R. The Phytoecdysteroid Profiles of 7 Species of *Silene* (*Caryophyllaceae*) // Archives of insect biochemistry and physiology. 2009. V. 72. № 4. P. 234–248.
4. Georgiev M. I., Pavlov A. I., Bley T. Hairy root type plant *in vitro* systems as a sources of bioactive substnsces // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2007. V. 27. P. 1175–1185.
5. Zenk M. H., Ruffer M., Amann M., Deus-Neumann B. Benzylisoquinoline biosynthesis by cultivated plant cells and isolated enzymes // J. Nat. Prod. 1985. V. 48. P. 725–738.
6. Fujita, Y., Hara, Y., Ogino, T. and Suga, C. Production of shikonin derivatives by cell suspension cultures of *Lithospermum erythrorhizon*. I. Effects of nitrogen source on the production of shikonin // Plant Cell Rep. 1981. V. 1. P. 59–60.
7. Ulbrich B., Weisner W., Arens H. Largesale production of rosmarinic acid from plant cell cultures of *Coleus blumei* Benth. In: Primary and secondary metabolism of plant cell cultures. Springer, Berlin, 1985. P. 293–303.
8. Ketchum, R. E. B., Gibson, D. M., Croteau, R. B., Shuler, M. L. The kinetics of taxoid accumulation in cell suspension cultures of *Taxus* following elicitation with methyl jasmonate // Biotechnol. Bioeng. 1999. V. 62. P. 97–105.
9. Cheng D. M., Yousef G. G., Grace M. H., Rogers R. B., Gorelick-Feldman J., Raskin I., Lila M. A. *In vitro* production of metabolism-enhancing phytoecdysteroids from *Ajuga turkestanica* // Plant Cell Tiss. Organ. Cult. 2008. V. 93. P. 73–83.
10. Palama T. L., Menard P., Fock I., Choi Y. H., Bourdon E., Govinden-Soulange J., Bahut M., Payet B., Verpoorte R., Kodja H. Shoot differentiation from protocorm callus cultures of *Vanilla planifolia* (*Orchidaceae*): proteomic and metabolomics responses at early stage // BMC Plant Biology. 2010. V. 10 (82). Режим доступа: <http://bmcplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2229-10-82>. (дата обращения: 20.01.2016).
11. Nogueira F. C. S., Goncalves E. F., Jeressati E. S., Santos M., Costa J. H., Oliveira-Neto O. B., Soares A. A., Domont G. B., Campos F. A. P. Proteome analysis of embryogenic cell suspensions of cowpea (*Vigna unguiculata*) // Physiology and Biochemistry. 2007. V. 26. P. 1333–1343.