

## Razvoj oralnog cjepiva protiv hepatitisa B, dobivenog iz transgene gljive *Flammulina velutipes*

### SAŽETAK

Oralna primjena cjepiva dobivenih iz gljiva obećavajuća je za prevenciju zaraznih bolesti. Jestive gljive smatraju se prikladnim domaćinom za proizvodnju cjepiva zbog malih troškova proizvodnje i malog rizika kontaminacije gena. Međutim, zbog slabe ekspresije antitijela gljive imaju limitirani potencijal za razvoj oralnih cjepiva. Niska razina ekspresije gena vjerojatno je posljedica nečistoće transgenih micelija, budući da se za transformaciju uglavnom koriste miceliji dikariona. U radu je transformacijom gena iz gljive *Flammulina velutipes* pomoću bakterije *Agrobacterium* dobiven stabilni antigen hepatitisa B (HBsAg). Zatim je uslijedilo formiranje plodišta i klijanje bazidiospora. Metodom Western blot potvrđeno je formiranje HBsAg. Razine ekspresije HBsAg u plodištima gljive *F. velutipes* bile su:  $(129,3 \pm 15,1)$ ,  $(110,9 \pm 1,7)$  i  $(161,1 \pm 8,5)$  ng po gramu ukupnog topljivog proteina. Međutim, te vrijednosti mogu biti i veće, jer u radu nije postignuta potpuna ekstrakcija proteina. Dvije od četiri svinje u pokusnoj skupini imale su IgG protutijela na HBsAg nakon hranidbe plodištima transgene gljive *F. velutipes* tijekom 20 tjedana. U uzorcima krvi svinja u kontrolnoj skupini nisu opažena protutijela na HBsAg. Jedna od dviju pozitivnih svinja imala je vrijednosti titra protutijela na HBsAg od 5,36 miliinternacionalnih jedinica po mililitri (mIJ/mL) u desetom tjednu i 14,9 mIJ/mL u četrnaestom tjednu ispitivanja, nakon čega su se te vrijednosti smanjivale. Druga je svinja imala vrijednosti titra od 9,75 mIJ/mL u četrnaestom tjednu, 17,86 mIJ/mL u osamnaestom tjednu i 39,87 mIJ/mL u dvadesetom tjednu ispitivanja. Imunogenost svinja hranjenih plodištima transgene gljive *F. velutipes* potvrđuje mogućnost primjene ove gljive kao oralnog cjepiva.

**Ključne riječi:** transformacija pomoću bakterije *Agrobacterium*, *Flammulina velutipes*, hepatitis B, razmnožavanje, oralno cjepivo