

1. Спосіб експресії інсуліну в насінні рослини, який включає

(a) одержання конструкції химерної нуклеїнової кислоти, що містить в 5'-3' напрямку транскрипції у вигляді функціонально зв'язаних компонентів:

(i) послідовність нуклеїнової кислоти, здатну контролювати експресію в клітинах насіння рослин;

(ii) послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид інсуліну; і

(iii) послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид, який здатний утримувати поліпептид інсуліну в ендоплазматичному ретикулюмі (ER) або похідній від ER накопичувальній везикулі;

(b) введення конструкції химерної нуклеїнової кислоти в клітину рослини; і

(c) вирощування клітини рослини в зрілу рослину, здатну давати насіння, де насіння експресує інсулін, де поліпептид інсуліну акумулюється в ендоплазматичному ретикулюмі (ER) або похідній від ER накопичувальній везикулі в клітині рослини і де щонайменше 0,1 % від загального білка, присутнього в насінні, складає інсулін.

2. Спосіб за п. 1, в якому вказаний поліпептид, який містить поліпептид інсуліну в ER, вибирають з групи, яка складається з KDEL, HDEL, DDEL, ADEL і SDEL.

3. Спосіб за п. 1, в якому вказаний поліпептид, який містить поліпептид інсуліну в ER, вибирають з групи, яка складається з SEQ ID NO:150, SEQ ID NO:151, SEQ ID NO:152, SEQ ID NO:153 і SEQ ID NO:154.

4. Спосіб за п. 1, де вказаний поліпептид інсуліну додатково містить послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує сигнальний пептид.

5. Спосіб за п. 4, в якому вказаним сигнальним пептидом є сигнальна послідовність білка, спорідненого з патогенезом тютюну (PR-S).

6. Спосіб за п. 4, в якому вказаною сигнальною послідовністю є SEQ ID NO:161.

7. Спосіб за п. 1, в якому вказаною ER-похідною накопичувальною органелою є масляне тільце.

8. Спосіб за п. 1, в якому вказаним поліпептидом, який містить поліпептид інсуліну в ER-похідній накопичувальній органелі, є білок масляного тільця.

9. Спосіб за п. 8, в якому вказаний білок масляного тільця вибирають з групи білків масляного тільця, що складається з олеозину, калеозину і стеролеозину.

10. Спосіб за п. 8, в якому вказаний білок масляного тільця вибирають з групи, яка складається з SEQ ID NO:156, SEQ ID NO:157 і SEQ ID NO:158, SEQ ID NO:159 і SEQ ID NO:160.

11. Спосіб за п. 1, в якому вказана химерна нуклеїнова кислота додатково містить послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує стабілізуючий білок, злитий в рамці зчитування з послідовністю нуклеїнової кислоти, яка кодує інсулін.

12. Спосіб за п. 11, в якому вказана химерна нуклеїнова кислота додатково містить послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує послідовність сигнального пептиду, злику в рамці зчитування з послідовністю нуклеїнової кислоти, яка кодує інсулін.

13. Спосіб за п. 11, в якому вказаний сигнальний пептид є сигнальною послідовністю білка, спорідненого патогенезу тютюну (PR-S).

14. Спосіб за п. 13, в якому вказаний сигнальний пептид являє собою SEQ ID NO:161.

15. Спосіб за п. 11, в якому вказана нуклеїнова кислота, яка кодує вказаний стабілізуючий білок, дозволяє об'єднання поліпептиду інсуліну з масляним тільцем при збиранні і подрібненні насіння.

16. Спосіб за п. 15, в якому вказаний стабілізуючий білок являє собою одноланцюжкове антитіло зі специфічністю до масляного тільця.

17. Спосіб за п. 11, в якому послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує стабілізуючий білок, злитий в рамці зчитування з послідовністю нуклеїнової кислоти, яка кодує інсулін, вибирають з групи поліпептидів, що складається з одноланцюжкового антитіла і субодиниці токсину В холери.

18. Спосіб за п. 1, в якому химерну послідовність нуклеїнової кислоти вводять в клітину рослини в умовах ядерної геномної інтеграції.

19. Спосіб за будь-яким з пп. 1-18, в якому вказаною послідовністю нуклеїнової кислоти, здатною контролювати експресію в насінні рослини, є переважний для насіння промотор.

20. Спосіб за п. 19, в якому переважним для насіння промотором є промотор фазеоліну.

21. Спосіб за будь-яким з пп. 1-20, в якому послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує інсулін, вибирають з групи послідовностей нуклеїнових кислот, що складається з людського інсуліну, свинячого інсуліну і бичачого інсуліну.

22. Спосіб за будь-яким з пп. 1-21, в якому нуклеїнова кислота, яка кодує інсулін, кодує міні-інсулін.

23. Спосіб за будь-яким з пп. 1-22, де послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує інсулін, оптимізують для застосування кодону рослини.

24. Спосіб одержання насіння рослин, яке містить інсулін, який включає:

(a) одержання конструкції химерної нуклеїнової кислоти, яка містить в 5'-3' напрямку транскрипції у вигляді функціонально зв'язаних компонентів:

(i) послідовність нуклеїнової кислоти, здатну контролювати експресію в клітинах насіння рослин;

(ii) послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид інсуліну; і

(iii) послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид, який здатний утримувати поліпептид інсуліну в ендоплазматичному ретикулумі (ER) або похідній від ER накопичувальній везикулі;

(b) введення конструкції химерної нуклеїнової кислоти в клітину рослини;

(c) вирощування клітини рослини в зрілу рослину, здатну давати насіння; і

(d) одержання насіння з вказаної рослини, де насіння містить інсулін, де вказаний поліпептид інсуліну акумулюється в ендоплазматичному ретикулумі (ER) або похідній від ER накопичувальній везикулі і де щонайменше 0,1 % від загального розчинного білка, присутнього в насінні, складає інсулін.

25. Рослина, здатна виробляти насіння, яке містить послідовність химерної нуклеїнової кислоти, яка містить в 5'-3' напрямку транскрипції:

(a) першу послідовність нуклеїнової кислоти, здатну контролювати експресію в клітині насіння рослини, функціонально зв'язану з

(b) другою послідовністю нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид інсуліну, де насіння містить інсулін, і

(c) послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид, який здатний утримувати поліпептид інсуліну в ендоплазматичному ретикулумі (ER) або похідній від ER накопичувальній везикулі, де насіння містить інсулін, де вказаний поліпептид інсуліну акумулюється в ендоплазматичному ретикулумі (ER) або похідній від ER накопичувальній везикулі в клітині рослини і де щонайменше 0,1% від загального розчинного білка, присутнього в насінні, складає інсулін.

26. Рослина за п. 25, в якій послідовність химерної нуклеїнової кислоти вводять в ядерний геном рослини.

27. Рослина за п. 25, де рослиною є *Arabidopsis*, льон або сафлор.

28. Насіння рослини, яке містить послідовність химерної нуклеїнової кислоти, яка містить в 5'-3' напрямку транскрипції:

(a) першу послідовність нуклеїнової кислоти, здатну контролювати експресію в клітині насіння рослини, функціонально зв'язану з

(b) другою послідовністю нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид інсуліну, і

(c) послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид, який здатний утримувати поліпептид інсуліну в ендоплазматичному ретикулюмі (ER) або похідній від ER накопичувальній везикулі, де насіння містить інсулін, де вказаний поліпептид інсуліну акумулюється в ендоплазматичному ретикулюмі (ER) або похідній від ER накопичувальній везикулі в клітині рослини і де щонайменше 0,1 % від загального розчинного білка, присутнього в насінні, складає інсулін.

29. Послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує інсулін, зв'язана з послідовністю нуклеїнової кислоти, що містить промотор, здатний контролювати експресію в клітині насіння рослини, зв'язана з послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид, який здатний утримувати поліпептид інсуліну в ендоплазматичному ретикулюмі (ER) або похідній від ER накопичувальній везикулі.

30. Послідовність нуклеїнової кислоти за п. 29, в якій вказаний промотор є переважним для насіння промотором.

31. Послідовність нуклеїнової кислоти за п. 30, в якій вказаним переважним промотором є промотор фазеоліну.

32. Застосування насіння рослини, одержаного згідно з пп. 1-24, для одержання практично чистого інсуліну.