

СТВОРЕННЯ ТА ВИВЧЕННЯ КУЛЬТУРИ ТРАНСГЕННИХ КОРЕНІВ *Althaea officinalis* L. З ГЕНОМ ІНТЕРФЕРОНУ $\alpha 2\text{В}$ ЛЮДИНИ

Н. А. Матвєєва¹
Ю. Й. Кудрявець²
О. А. Ліхова²
О. Ю. Кваско¹
А. М. Шаховський¹

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії
НАН України, Київ

²Інститут експериментальної патології, онкології
та радіобіології ім. Р. Е. Кавецького НАН України, Київ

E-mail: joyna@ukr.net

Отримано 7.02.2013

Метою роботи було одержання культури «бородатих» коренів *Althaea officinalis* L. з геном інтерферону $\alpha 2\text{В}$ людини (*ifn- $\alpha 2\text{b}$*), визначення вмісту фруктанів та противірусної активності екстрактів із трансгенних коренів. Трансформування листових та кореневих експлантів здійснювали методом *Agrobacterium rhizogenes*-опосередкованої трансформації. Противірусну активність визначали за зниженням цитопатичної дії вірусу везикулярного стоматиту (штам Індіана) у клітинах нирки бика лінії MDBK.

З обох типів експлантів з частотою 100% отримано трансгенні корені алтею. Методом ЗТ-ПЛР підтверджено транскрипцію гена *ifn- $\alpha 2\text{b}$* . Різні клони одержаних «бородатих» коренів відрізнялися за швидкістю росту — приріст маси за 30 діб коливався від 0, 036 \pm 0,008 до 0,371 \pm 0,019 г з однієї точки росту, а також за синтезом фруктанів, вміст яких максимально дорівнював 154,6 \pm 6,62 мг/г сухої маси коренів. Показано, що генетична трансформація у деяких випадках сприяла підвищенню швидкості росту та збільшенню накопичення фруктанів у трансгенних коренях *A. officinalis*.

Екстракти з культивованих *in vitro* коренів виявили високу (до 26 000 МО/г маси) активність проти вірусу везикулярного стоматиту.

Таким чином, було отримано трансгенні корені алтею, які відзначалися високими швидкістю росту, рівнем накопиченням фруктанів та противірусною активністю.

Ключові слова: *Agrobacterium rhizogenes*, *Althaea officinalis* L., генетична трансформація, інтерферон $\alpha 2\text{В}$ людини, фруктани.

Застосування методів генетичної трансформації, зокрема з використанням бактерій роду *Agrobacterium*, уможливорює одержання рослин, які синтезують невластиві для них протеїни. Такі рослини викликають досить великий інтерес з огляду на те, що їх можна використовувати як біофабрики для продукування цінних лікарських сполук завдяки включенню до їхнього геному перенесених генів.

Особливий інтерес як об'єкти генетичної трансформації та потенційні продуценти сполук медичного призначення становлять лікарські рослини, адже вони природно синтезують сполуки, які використовують для лікування та профілактики низки захворювань [1].

Відомо, що генетична трансформація із застосуванням агробактерій може сприяти

підвищенню рівня синтезу цінних природних сполук у рослинах. Перенесення до геному рослин цільових генів, що кодують синтез протеїнів з лікувальними властивостями, дає змогу отримувати рослини, які продукують як природні, так і невластиві для даного виду сполуки медичного призначення. Із застосуванням *A. rhizogenes* для генетичної трансформації рослин одержують культуру так званих «бородатих» коренів, які ростуть на живильному середовищі за відсутності регуляторів росту і мають характерний фенотип [2]. Такі корені, так само як і вихідні рослини, є продуцентами природних сполук [3] або сполук, що синтезуються завдяки перенесенню чужорідних генів [4, 5]. Культура коренів є більш генетично стабільною порівняно з культурами клітин [6]. «Бородаті» корені використовують

у біореакторах для продукування цінних сполук [7, 8].

Рослини *Althaea officinalis* (Malvaceae) є лікарськими і набули застосування у народній та традиційній медицині. У коренях і листях алтею синтезуються такі сполуки, як флавоноїди, глікозиди, кумарини та ін. Ці рослини використовують для лікування кашлю, запалення шлунку, як протипухлинний, противірусний, антибактеріальний та імуностимулювальний засіб [9–12].

Незважаючи на давнє та широке застосування рослин алтею у медичній практиці, досі ці рослини практично не використовували як об'єкти біотехнологічних досліджень. Є лише обмежене коло публікацій щодо культивування *in vitro*, зокрема ініціювання росту адвентивних пагонів [13]. У наших дослідженнях рослини алтею було використано для генетичної трансформації з метою одержання культури «бородатих» коренів та вивчення накопичення фруктанів, а також противірусної активності екстрактів із трансгенних коренів.

Матеріали і методи

Вихідним матеріалом слугувало насіння рослин *Althaea officinalis* L. (виробництва фірми «Насіння України»). Для введення рослин *in vitro* насіння стерилізували у 25%-му розчині комерційного препарату «Білизна» протягом 10 хв, промивали тричі по 5 хв стерильною дистильованою водою і культивували на поверхні агаризованого середовища 1/2МС (середовище Мурасіге–Скуга [14] зі зменшеним удвічі вмістом макроелементів) при температурі 24 °С та 16-годинному освітленні. Як експланти використовували листки 10–14-денних проростків, на яких робили поперечні надрізи, а також корені цих проростків.

Для трансформації застосовували *A. rhizogenes* (штам GV3101) з векторною конструкцією pCB161 [15]. Бактерії вирощували на середовищі LB [16] з антибіотиками (100 мг/л карбеніциліну, 50 мг/л рифампіцину) на ротаційному шейкері (200 об/хв) при температурі 28 °С упродовж 48 год. Трансформацію проводили згідно з раніше описаною методикою [15]. Після кокультивування з агробактеріями експланти вирощували в чашках Петрі на агаризованому середовищі 1/2 МС протягом двох діб, потім переносили на середовище 1/2МС із 600 мг/л цефатоксиму. Оскільки використаний вектор мав ген *nptII*, селекцію трансгенних коренів здійснювали в присутності 25 мг/л

канаміцину, який додавали до живильного середовища через 9 діб після трансформації.

Транскрипцію перенесених генів досліджували, використовуючи полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР), поєднану зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). Сумарну РНК виділяли за методикою [17]. Використовували набір реактивів Fermentas і праймери, специфічні до генів *ifn-α2b* (5'-ttgatgctcctggcacag-3', 5'-ttctgctctgacaacctc-3', 396 п.н.) та *nptII* (5'-cctgaatgaactccaggacaggca-3' і 5'-gctctagatccagagtcccgctcagaag-3', 622 п.н.). Вміст поліфруктанів визначали за методикою [18] і перераховували на суху масу коренів.

Для приготування протеїнових екстрактів рослинний матеріал зважували, розтирали з фосфатним буфером (рН 7,0), переносили у центрифужну пробірку та центрифугували 15 хв при 15 000g (+4 °С). Надосад відбирали, переносили в чисту пробірку. До осаду додавали 0,3 мл буфера, 1% додецилсульфату натрію, 1мМ інгібітора протеаз (PMSF), витримували на льоду 10 хв, центрифугували при 3 000 g. Обидва екстракти поєднували. Вміст протеїну визначали за методом Бредфорда [19].

Противірусну активність встановлювали мікрометодом за зниженням цитопатичної дії вірусу везикулярного стоматиту (штам Індіана) у клітинах нирки бика лінії MDBK, які є високочутливими до антивірусної дії інтерферону-альфа людини. Застосовували методику, описану в статті [20]. Результати реєстрували через 24 год. За одну одиницю активності інтерферону приймали розведення зразків, які захищали 50% клітинного моношару від цитопатичної дії вірусу везикулярного стоматиту. Титр інтерферону виражали у міжнародних одиницях на 1 г маси коренів (МО/г) або у міжнародних одиницях на 1 мкг загального розчинного протеїну (МО/мкг).

Результати та обговорення

Ріст коренів на експлантах (як на листових, так і на кореневих) починався через 10–12 діб після кокультивування з агробактеріями. Корені формувалися на всіх експлантах (три незалежні експерименти), частота коренеутворення досягала 100% (у кожному експерименті використовували по 40 експлантів). Приріст довжини за 10 днів становив 8–10 мм. Отримані корені мали характерні для «бородатих» коренів ознаки — ріст на безгормональному середовищі, негативний геотропізм, значну розгалуженість (рис. 1).

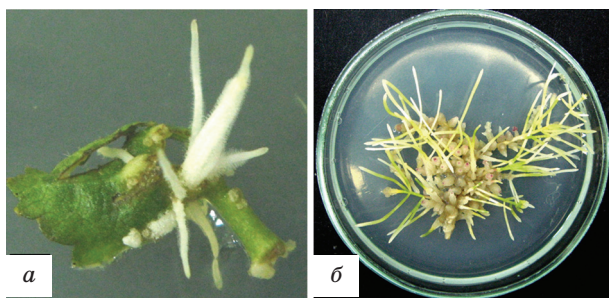


Рис. 1. Коренеутворення на листових експлантах алтею (а) та ріст «бородатих» коренів на безгормональному середовищі МС (б) після трансформування за допомогою *A. rhizogenes* з вектором pCB161

Термінальні ділянки коренів завдовжки близько 10 мм відділяли від експлантів і переносили на поверхню живильного середовища 1/2МС для нарощування біомаси та визначення швидкості росту (за приростом маси за 30 діб). Корені різних ліній, отриманих після *A. rhizogenes*-опосередкованої трансформації, відрізнялися за швидкістю росту. Так, приріст маси коренів за 30 діб коливався від $0,036 \pm 0,008$ до $0,371 \pm 0,019$ г (рис. 2).

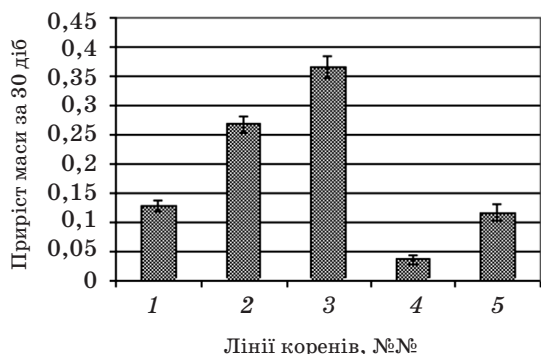


Рис. 2. Приріст маси «бородатих» коренів алтею

Проведені ПЛР-аналізи підтвердили наявність цільового та селективного генів (відповідно *ifn-α2b* та *nptII*), а також *rolB* гена агробактерій. ЗТ-ПЛР-аналіз виявив, що у всіх лініях коренів відбувається синтез мРНК цільового гена (рис. 3), а отже, відсутнє так зване «мовчання» генів, яке може відбуватися в разі трансформування ядерної ДНК рослин.

Відомо, що генетична трансформація може призводити до змін у синтезі запасних сполук. Раніше нами було показано, що трансгенні корені цикорію та салату, трансформовані агробактеріями з різними цільовими генами, у тому числі з геном *ifn-α2b*,

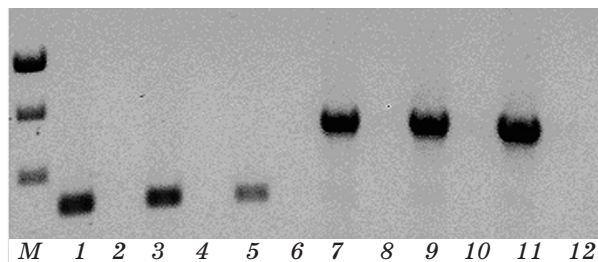


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ЗТ-ПЛР генів *nptII* (622 п.н.) та *ifn-α2b* (396 п.н.) трансгенних коренів алтею: М — ДНК-маркер (O'GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder, Fermentas); парні треки — синтез зворотних транскриптів за відсутності ревертази; непарні — ЗТ-ПЛР з ревертазою

мають підвищений вміст фруктанів [21]. Тому доцільно було визначити, чи вплинула генетична трансформація на синтез фруктанів у трансгенних коренях алтею. Порівняння виявило, що різні лінії коренів відрізнялися одна від одної за вмістом фруктанів, який коливався від $67,20 \pm 4,47$ до $154,62 \pm 6,62$ мг/г сухої маси коренів (рис. 4). У коренях нетрансформованих рослин (контроль) вміст фруктанів дорівнював $69,32 \pm 3,95$ мг/г сухої маси. Отже, для низки ліній трансгенних коренів встановлено достовірне підвищення вмісту фруктанів порівняно з контролем. Порівняння швидкості росту та накопичення фруктанів показало, що найменший вміст фруктанів спостерігався в лінії з найбільшою швидкістю росту, що є цілком закономірним і встановлено нами раніше на трансгенних коренях цикорію. Такі результати також узгоджуються з даними літератури щодо впливу генетичної трансформації на ріст та синтез сполук у трансгенних рослинах. Відомо, що різні лінії (клони) є незалежними трансформантами [22] і можуть

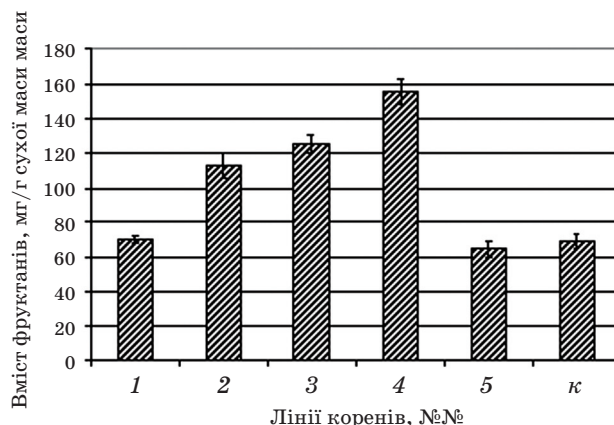


Рис. 4. Вміст фруктанів у трансгенних коренях алтею: 1–5 — незалежні клони, к — контроль (нетрансформовані корені)

відрізнитися за морфологією, швидкістю росту, синтезом вторинних метаболітів і запасних сполук, що залежить від низки факторів, зокрема інтеграції трансгенів і кількості копій [23, 24].

Дослідження біологічної активності екстрактів із трансгенних коренів стосовно вірусу везикулярного стоматиту виявило пригнічення вірусу та наявність інтерфероподібної активності, причому рівень активності у коренях різних ліній істотно відрізнявся (таблиця).

Наявність гена *ifn- $\alpha 2b$* , синтез мРНК та противірусна активність протеїнових екстрактів із трансгенних коренів алтею

Лінія коренів	ПЛР (<i>ifn-$\alpha 2b$</i>)	ЗТ-ПЛР (<i>ifn-$\alpha 2b$</i>)	Інтерфероподібна активність	
			МО/г маси коренів	МО/мкг загального розчинного протеїну
Алт 1	+	+	181,812	0,446
Алт 2	+	+	22727,274	12,777
Алт 3	+	+	26086,962	16,025

Примітка: + — позитивний ПЛР- та ЗТ-ПЛР-аналізи.

Раніше було показано, що інтерферони людини можуть синтезуватись у трансгенних рослинах різних видів — тютюні, картоплі, рису, моркві тощо. Рівень противірусної активності рекомбінантного інтерферону рослинного походження варіює у достатньо широких межах. Наприклад, противірусна активність екстрактів із трансгенного рису становила до 30 000–45 000 МО/г маси насін-

ня [25], у рослинах моркви — до 50 700 МО/г сирової маси [26], рослинах картоплі — 210–560 МО/г маси [27], алое — 453,9–10 175,9 МО/г маси [28]. Як впливає з наведених у таблиці даних, рівень противірусної активності протеїнових екстрактів з отриманих нами трансгенних коренів алтею коливався від 181,812 до 26 086,962 МО/г маси. Клон № 3, для якого виявлено найвищу противірусну активність, характеризувався і найбільшою швидкістю росту. Отже, ці корені є перспективними для використання у біотехнологіях продукування інтерферону в рослинних системах.

Порівняння противірусної активності, зареєстрованої у наведених роботах, є дещо умовним, адже різні автори екстрагували інтерферон за різних умов, а також використовували різні клітинні лінії для тестування противірусної дії екстрактів. Разом з тим наведені дані свідчать про можливість одержання рослин, культури коренів або клітинних ліній, які здатні синтезувати біологічно активний інтерферон.

Таким чином, з використанням *Agrobacterium rhizogenes*-опосередкованої трансформації було отримано культури трансгенних коренів алтею з геном інтерферону $\alpha 2b$ людини. Частота трансформації з листових та кореневих експлантів була однаковою і становила 100%. Лінії (клони) відрізнялися за швидкістю росту та синтезом фруктанів, максимальний вміст яких дорівнював $154,6 \pm 6,62$ мг/г сухої маси коренів. Протеїнові екстракти із цих коренів, одержані шляхом екстрагування фосфатним буфером, виявляли активність проти вірусу везикулярного стоматиту до 26 086,96 МО/г маси коренів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Sevón N., Oksman-Caldentey K. M. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation: root cultures as a source of alkaloids // *Planta Med.* — 2002. — V. 68, N 10. — P. 859–868.
2. Tepfer D. Transformation of several species of higher plants by *Agrobacterium rhizogenes*: phenotypic consequences and sexual transmission of the transformed genotype and phenotype // *Cell.* — 1984. — V. 37, N 3. — P. 959–967.
3. Roychowdhury D., Majumder A., Jha S. *Agrobacterium rhizogenes*-Mediated Transformation in Medicinal Plants: Prospects and Challenges in: S. Chandra et al. (eds.), *Biotechnology for Medicinal Plants.* — Berlin — Heidelberg: Springer-Verlag, 2013. — P. 29–68.
4. Banerjee S., Shang T. Q., Wilson A. M. et al. Expression of functional mammalian P450 2E1 in hairy root cultures // *Biotechnol. Bioeng.* — 2002. — V. 77, N 4. — P. 462–466.
5. Mei-Liang Zhou, Xue-Mei Zhu, Ji-Rong Shao et al. Production and metabolic engineering of bioactive substances in plant hairy root culture // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2011. — V. 90, N 4. — P. 1229–1239.
6. Baiza A. M., Quiroz-Moreno A., Ruiz J. A., Loyola-Vargas V. M. Genetic stability of hairy root cultures of *Datura stramonium* // *Plant Cell Tiss.* — 1999. — V. 59, N 1. — P. 9–17.

7. Choi S. M., Son S. H., Yun S. R. et al. Pilot scale culture of adventitious roots of ginseng in a bioreactor system // *Ibid.* — 2000. — V. 62, N 3. — P. 187–193.
8. Kim Y., Wyslouzil B. E., Weathers P. J. Secondary metabolism of hairy root cultures in bioreactors // *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* — 2002. — V. 38, N 1. — P. 1–10.
9. Ali Shah S. M., Akhtar Naveed, Akram M. et al. Pharmacological activity of *Althaea officinalis* L. // *J. Med. Plants Research.* — 2011. — V. 5, N 24. — P. 5662–5666.
10. Rani S., Khan S. A., Ali M. Phytochemical investigation of the seeds of *Althaea officinalis* L. // *Nat. Prod. Res.* — 2010. — V. 24, N 14. — P. 1358–1364.
11. Deters A., Zippel J., Hellenbrand N. et al. Aqueous extracts and polysaccharides from Marshmallow roots (*Althaea officinalis* L.): cellular internalisation and stimulation of cell physiology of human epithelial cells in vitro // *J. Ethnopharm.* — 2010. — V. 127, N 1. — P. 62–69.
12. Sutovska M., Capek P., Franova S. et al. Antitussive activity of *Althaea officinalis* L. polysaccharide rhamnogalacturonan and its changes in guinea pigs with ovalbumine-induced airways inflammation // *Bratisl. Lek. Listy.* — 2011. — V. 112, N 12. — P. 670–675.
13. Naz R., Anis M. Acceleration of adventitious shoots by interaction between exogenous hormone and adenine sulphate in *Althaea officinalis* L. // *Appl. Biochem. Biotechnol.* — 2012. — V. 168, N 5. — P. 1239–1255.
14. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // *Phys. Plant.* — 1962. — V. 15, N. 3. — P. 473–497.
15. Матвеева Н. А., Шаховський А. М., Герасименко І. М. та ін. Перенесення гена біосинтезу інтерферону- $\alpha 2b$ в рослини цикорію (*Cichorium intybus* L.) методом агробактеріальної трансформації // *Біополімери і клітина.* — 2009. — Т. 25, № 2. — С. 120–125.
16. Маниатис Т., Фрич Е. Ф., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. — М.: Мир, 1984. — 480 с.
17. Logemann J., Schell J., Willmitzer L. Improved method for the isolation of RNA from plant tissues // *Anal. Biochem.* — 1987. — V. 163, N 1. — P. 16–20.
18. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений. — Л.: Агропромиздат, 1987. — 143 с.
19. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* — 1976. — V. 7, N 72. — P. 248–254.
20. Матвеева Н. А., Кудрявец Ю. И., Лихова А. А. и др. Противовирусная активность экстрактов трансгенных растений цикория и салата с геном интерферона α -2b человека // *Цитология и генетика.* — 2012. — № 5. — С. 28–35.
21. Матвеева Н. А., Кваско О. Ю. Особливості накопичення поліфруктанів в трансгенних рослинах цикорію *Cichorium intybus* L. // *Вісник укр. т-ва генетиків і селекціонерів.* — 2011. — Т. 9, № 1. — С. 65–69.
22. Chilton M. D., Tepfer D. A., Petit A. et al. *Agrobacterium rhizogenes* inserts T-DNA into the genomes of the host-plant root cells // *Nature.* — 1982. — V. 295. — P. 432–434.
23. Batra J., Dutta A., Singh D. et al. Growth and terpenoid indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* hairy root clones in relation to left- and right-terminilinked Ri T-DNA gene integration // *Plant. Cell. Rep.* — 2004. — V. 23, N 3. — P. 148–154.
24. Chaudhuri K. N., Ghosh B., Tepfer D., Jha S. Spontaneous plant regeneration in transformed roots and calli from *Tylophora indica*: changes in morphological phenotype and tylophorine accumulation associated with transformation by *Agrobacterium rhizogenes* // *Ibid.* — 2006. — V. 25, N 10. — P. 1059–1066.
25. Takehiro M., Morita S., Miki Y. et al. Production of biologically active human interferon- α in transgenic rice // *Plant Biotechnol.* — 2006. — V. 23, N. 1. — P. 91–97.
26. Luchakivskaya Y., Kishchenko O., Gerasymenko I. et al. High-level expression of human interferon alpha-2b in transgenic carrot (*Daucus carota* L.) plants // *Plant. Cell. Rep.* — 2011. — V. 30, N 3. — P. 407–415.
27. Kenji Ohya, Takeshi Matsumura, Kazuhiko Ohashi et al. Expression of Two Subtypes of Human IFN- α in Transgenic Potato // *Plant. J. Interferon & Cytokine Research.* — 2001. — V. 21, N 8. — P. 595–602.
28. Lowther W., Lorick K., Lawrence S. D., Wen-Shuz Yeow. Expression of biologically active human interferon alpha 2 in Aloe vera // *Transgenic Res.* — 2012. — V. 21, N 6. — P. 1349–1357.

**СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ КУЛЬТУРЫ
ТРАНСГЕННЫХ КОРНЕЙ *Althaea
officinalis* С ГЕНОМ ИНТЕРФЕРОНА
 α 2В ЧЕЛОВЕКА**

Н. А. Матвеева¹
Ю. И. Кудрявец²
А. А. Лихова²
Е. Ю. Кваско¹
А. М. Шаховский¹

¹Институт клеточной биологии
и генетической инженерии НАН Украины,
Киев

²Институт экспериментальной патологии,
онкологии и радиобиологии
им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

E-mail: joyna@ukr.net

Целью работы было получение культуры «бородатых» корней *Althaea officinalis* L. с геном интерферона α 2b человека (*ifn- α 2b*), определение содержания фруктанов и противовирусной активности экстрактов из трансгенных корней. Трансформацию листовых и корневых эксплантов осуществляли методом *Agrobacterium rhizogenes*-опосредованной трансформации. Противовирусную активность определяли по снижению цитопатического действия вируса везикулярного стоматита (штамм Индиана) в клетках почки быка линии MDBK. При использовании двух типов эксплантов с частотой 100% получены трансгенные корни алтея. Методом ОТ-ПЦР подтверждено транскрибирование гена *ifn- α 2b*.

Различные клоны полученных «бородатых» корней отличались по скорости роста — прирост массы за 30 дней колебался от 0,036 ± 0,008 до 0,371 ± 0,019 г (из одной точки роста), а также по синтезу фруктанов, содержание которых максимально составляло 154,6 ± 6,62 мг/г сухой массы корней. Показано, что генетическая трансформация в ряде случаев приводила к повышению скорости роста и увеличению синтеза фруктанов в трансгенных корнях *A. officinalis*.

Экстракты из культивируемых *in vitro* трансгенных корней алтея обнаружили высокую (до 26 000 МЕ/г массы) активность против вируса везикулярного стоматита.

Таким образом, были получены трансгенные корни алтея, которые отличались высокой скоростью роста, значительным накоплением фруктанов и высокой противовирусной активностью.

Ключевые слова: *Agrobacterium rhizogenes*, *Althaea officinalis* L., генетическая трансформация, интерферон α 2b человека, фруктаны.

**CONSTRUCTION AND STUDY
OF *Althaea officinalis* TRANSGENIC
ROOTS CULTURE WITH HUMAN
INTERFERON α 2B GENE**

N. A. Matvieieva¹
Yu. I. Kudriavets²
A. A. Lichova²
O. Yu. Kvasko¹
A. M. Shachovsky¹

¹Institute of Cell Biology and Genetic
Engineering of National Academy of Sciences
of Ukraine, Kyiv

²Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology
of National Academy of Sciences of Ukraine,
Kyiv

E-mail: joyna@ukr.net

The aim of our work was to obtain *Althaea officinalis* L. «hairy» root culture with human interferon α 2b gene (*ifn- α 2b*), to measure fructans content and antiviral activity of extracts from the transgenic roots. Transformation of leaf and root explants was carried out by means of *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation. Antiviral activity was measured by the reduction in cytopathic effect of vesicular stomatitis virus (Indiana strain) in bovine kidney cells line MDBK.

Transformation frequency was 100% for leaf and root explants. RT-PCR confirmed *ifn- α 2b* gene transcription. The clones of transgenic roots differed in mass increasing from 0,036 ± 0,008 up to 0,371 ± 0,019 g in 30 days cultivation and in fructan synthesis from 67,2 ± 4,47 up to 154,6 ± 6,62 mg/g roots dry weight.

Extracts from «hairy» roots culture were characterized by high antiviral activity against vesicular stomatitis virus — up to 26 000 IU/ g of roots fresh weight.

In some cases the genetic transformation shown to lead increasing the growth rate and increasing the level of fructan synthesis in transgenic *A. officinalis* roots. Extracts from cultivated *in vitro* marshmallow transgenic roots were characterized by high level of antiviral activity against vesicular stomatitis virus.

Thus, there were obtained transgenic *A. officinalis* roots, characterized by high growth rate, significant accumulation of fructans and high antiviral activity.

Key words: *Agrobacterium rhizogenes*, *Althaea officinalis* L., genetic transformation, human interferon α 2b, fructans.