

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.10.088>

УДК 57.576.08

А.Ю. Бузіашвілі, А.І. Ємець

ДУ “Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України”, Київ

E-mail: buziashvili.an@gmail.com

Отримання ліній рослин картоплі та томатів з геном лактоферину людини

Представлено членом-кореспондентом НАН України А.І. Ємець

Проведено *Agrobacterium*-опосередковану трансформацію сортів картоплі *Solanum tuberosum* української селекції (Левада та Світанок) та сортів томатів *Lycopersicon esculentum* (Мані Мейкер та Лагідний) геном лактоферину людини задля підвищення їх стійкості до фітопатогенів. Отримано та проаналізовано трансгенні лінії досліджуваних сортів рослин. Перенесення цільового гена до геному досліджуваних рослин підтверджено за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з використанням специфічних праймерів до гена лактоферину. За попередніми даними з використанням біотестів на стійкість до фітопатогенів показано наявність підвищеної стійкості до фітофторозу у трансгенних ліній.

Ключові слова: *Agrobacterium*-опосередкована трансформація, ген лактоферину людини, картопля, томати, трансгенні лінії, полімеразна ланцюгова реакція.

Вирощування картоплі (*Solanum tuberosum* L.) та томатів (*Lycopersicon esculentum* Mill.) як лідерів за споживанням серед овочевих культур в Україні, як і в усьому світі, пов'язано з високим ризиком їх зараження небезпечними бактеріальними та грибовими патогенами, зокрема такими, що спричиняють найбільш серйозні захворювання — фітофтороз та фузаріоз [1, 2]. Підвищити стійкість рослин до таких біотичних чинників можна шляхом перенесення відповідних генів за допомогою генетичної інженерії, зокрема, за рахунок трансформації їх такими генами, як ген лактоферину людини (*hLF*) [3]. Лактоферин — це білок із родини трансферинів, який міститься в молоці, слюзах та інших секреторних рідинах ссавців і, зокрема, людини. Крім ферумзв'язувальної функції, лактоферину також притаманні антибактеріальні, фунгіцидні, противірусні та антипротозойні властивості [3]. Отже, за умови успішного вбудовування гена *hLF* у геном обраних генотипів картоплі і томату та його подальшої експресії резистентність до бактеріальних патогенів та фітопатогенів може бути підвищеною у рослин-реципієнтів. Саме тому за мету дослідження ставилося перенесення гена лактоферину людини в геном картоплі та томатів за допомогою методу *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації.

© А.Ю. Бузіашвілі, А.І. Ємець, 2018

Матеріали та методи. Для перенесення гена лактоферину людини в геном картоплі та томатів за допомогою методу *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації були використані два українських сорти картоплі (столовий сорт Левада та технічний сорт Світанок) і два ранньостиглих сорти томатів (Мані Мейкер та Лагідний). Склад живильних середовищ для культивування *in vitro* рослин картоплі та томату, а також для культивування та селекції трансформованих експлантів наведено в таблиці [4, 5].

Для введення в культуру *in vitro* рослин томатів насіння стерилізували протягом 2–3 хв у 70 %-му етанолі, 15 хв у 5 %-му розчині гіпохлориту натрію та тричі промивали (по 10 хв) у стерильній дистильованій воді. Потім його висівали у чашки Петрі ($d = 9$ см) на стерильне середовище МСТ (див. таблицю), яке готували на основі базового живильного середовища МС [6] з додаванням 2 мг/л гліцину, 8 %-го агару, рН 5,7 із розрахунку 50–100 насінин на одну чашку і культивували протягом 10 діб при 22–24 °С та фотоперіоді 16/8 год.

Мікроклональне розмноження рослин картоплі здійснювали в 20-см пробірках зі стерильним живильним середовищем МСК (див. таблицю) шляхом живцювання в умовах *in vitro*.

Для генетичної трансформації рослин томату як експланти використовували сім'я-дольні листки 10- та 11-добових проростків, які відділяли від пагона, розрізали на дві частини та прекультивували протягом 1 доби при 22–24 °С та фотоперіоді 16/8 год. В одному досліді використовували 50–70 експлантів, розміщуючи їх на середовище МСТ в чашки Петрі ($d = 9$ см) верхньою стороною листка догори. Кількість експлантів не перевищувала 30 шт. на одну чашку.

Трансформацію картоплі проводили з використанням міжвузлових ділянок стебла завдовжки 1–2 см з бічними бруньками. Експланти картоплі трансформували одразу після

Склад живильних середовищ для *in vitro* мікроклонального розмноження, культивування експлантів і регенерації рослин томатів та картоплі

Назва середовища	Мікро- та макро-солі МС [7], г/л	Сахароза, %	Вітамін В ₃ [8]	Тіамін, мг/л	Піридоксин, мг/л	Гліцин, мг/л	БАП, мг/л	Зеатинрибозид, мг/л	ІОК, мг/л	2,4-Д, мг/л	Канаміцин, мг/л	Цефотаксим, мг/л
<i>Для картоплі</i>												
МСК	4,3	1	–	2	0,8	–	–	–	–	–	–	–
МСК-К	4,3	3	+	–	–	2	0,5	–	–	0,25	–	–
МСК-С1	4,3	3	+	–	–	2	0,5	–	–	0,25	100	300
МСК-С2	4,3	1	–	2	0,8	–	–	–	–	–	100	300
МСК-Р	4,3	1	–	2	0,8	–	–	–	–	–	–	300
<i>Для томатів</i>												
МСТ	4,3	3	+	–	–	2	–	–	–	–	–	–
МСТ-С	4,3	3	+	–	–	2	–	1	1	–	25	300
МСТ-Р	4,3	3	+	–	–	2	–	1	1	–	–	300

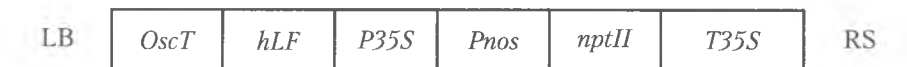


Рис. 1. Схема Т-ДНК бінарної плазмиди рВІN35LF. LB та RB — ліва та права границі Т-ДНК; *P35S* — промотор вірусу мозаїки цвітної капусти; *hLF* — ген лактоферину людини; *OscT* — октопіновий термінатор; *Pnos* — промотор нопалінсинтетази; *nptII* — ген неоміцинфосфотрансферази II; *T35S* — термінатор вірусу мозаїки цвітної капусти

виділення без етапу прекультивування. В одному досліді з трансформації використовували 20–50 експлантів картоплі, які розміщували приблизно по 20 шт. на одну чашку.

Трансформацію здійснювали за допомогою супервірулентного штаму *Agrobacterium tumefaciens* ЕНА 105, що мав плазмідний вектор рВІN35LF з геном *hLF* під контролем 35S промотору вірусу мозаїки цвітної капусти (*P35S*) та термінатора октопіносинтази, а також селективний маркерний ген неоміцинфосфотрансферази II (*nptII*), який забезпечує стійкість до антибіотика канаміцину [7] (рис. 1).

Бактеріальні клітини вирощували протягом доби у 20 мл рідкого середовища LB при 28 °С та постійному обертанні 130 об/хв до оптичної щільності $OD_{600} = 600$. Експланти інокулювали агробактерією у присутності 30 мкл 0,1 М розчину ацетосирингону: томатів — протягом 20 хв, картоплі — протягом 30 хв. Далі експланти томатів та картоплі кокультивували протягом 1 доби на середовищі МСТ чи МСК-К (див. таблицю) відповідно з агробактерією. Після кокультивування проводили селекцію трансформованих експлантів та пересаджували їх кожні 2 тижні на свіже живильне середовище відповідного складу. Для цього міжвузля картоплі культивували спочатку на чашках Петрі з середовищем МСК-С1 протягом 3–4 тижнів до появи проростків завдовжки 2–3 см, потім ці проростки пересаджували в 20-см скляні пробірки, що містили середовище МСК-С2 (див. таблицю), та проводили селекцію трансформантів впродовж 2 місяців у присутності 100 мг/л канаміцину. Далі життєздатні пагони картоплі пересаджували на середовище МСК-Р для їх подальшої регенерації та росту, а через 1 місяць відбирали рослинний матеріал для виявлення вбудовування цільового гена (*hLF*) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Селекцію експлантів томату здійснювали протягом 3–4 місяців на середовищі МСТ-С (див. таблицю) до появи пагонів завдовжки 2–3 см. Далі пагони томатів вирощували на середовищі МСТ-Р (див. таблицю) протягом 1 місяця та відбирали рослини для подальшого молекулярно-генетичного аналізу методом ПЛР.

Геномну ДНК із 200–300 мг рослинної тканини виділяли за допомогою цетилтриметиламоній броміду (метод ЦТАБ) [8]. Для ПЛР використовували 50–100 нг геномної ДНК контрольних і трансформованих рослин картоплі та томату. Наявність гена лактоферину в трансгенних рослинах підтверджували за результатами ампліфікації фрагмента гена *hLF* з використанням такої пари праймерів: *GL-F* (5'-TGTCTTCCTCGTCCTGCTGTTCC-3') та *GL-R* (5'-САТАСТСГТСССТТТ-САГССТСГ-3'), розмір амплікона становив 734 п. о. Ампліфікацію проводили на апараті PCR Applied Biosystem 2720 (США). Реакційна суміш для ПЛР містила 5x буфер для *Taq*-полімерази, буфер, що містив іони Mg^{2+} (Helicon), 50–100 нг геномної ДНК, 0,2 мкМ кожного праймера, 200 мкМ кожного дНТФ та 0,5 од. *Taq*-ДНК-полімерази ("Fermentas", Литва). Ампліфікацію здійснювали за таких умов: первинна денатурація протягом 3 хв при 94 °С; 45 циклів по 30 с при 94 °С, 30 с при 62 °С, та 1 хв при 72 °С;

Рис. 2. Відносна кількість (у відсотках) трансформованих життєздатних регенерантів картоплі сортів Левада та Світанок, а також томату сортів Мані Мейкер та Лагідний після 1 та 3 місяців селекції у присутності канаміцину

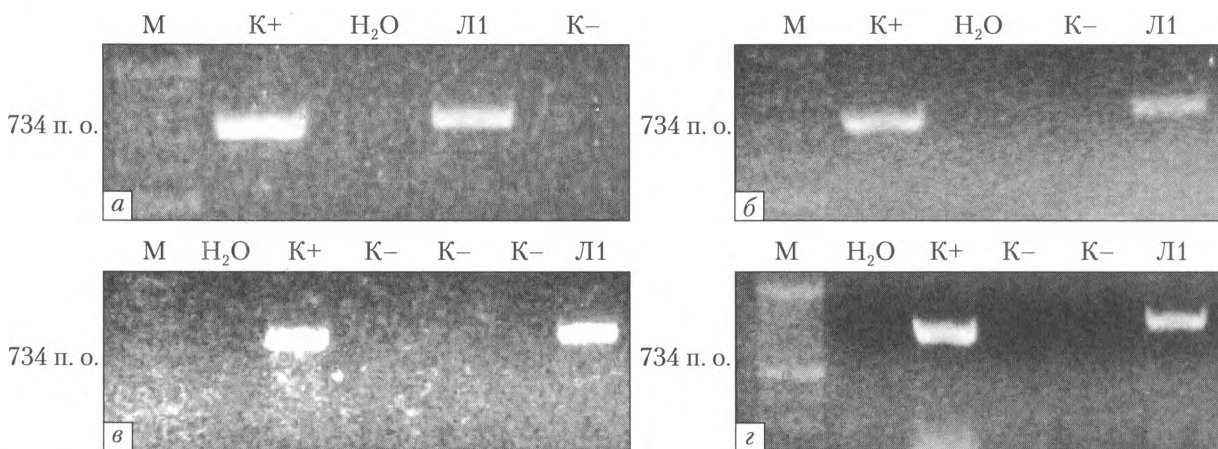
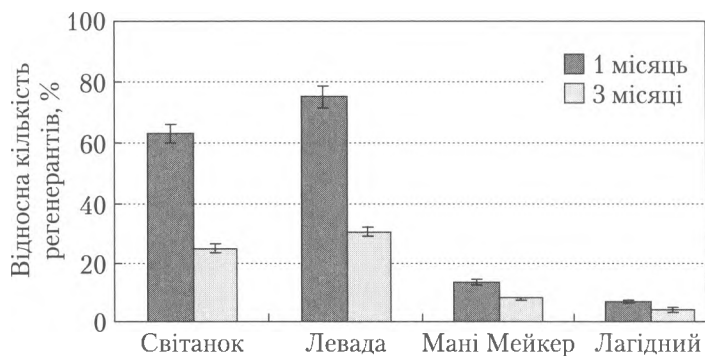


Рис. 3. Результати ПЛР аналізу трансформованих ліній рослин картоплі і томатів, які несуть ген *hLF*: а – томату сорту Мані Мейкер, б – томату сорту Лагідний, в – картоплі сорту Левада, з – картоплі сорту Світанок; М – молекулярний маркер; К+ – позитивний контроль (плазмід рVin35LF); H₂O – ампліфікація при відсутності матриці ДНК; Л1 – трансгенна лінія, що несе ген *hLF*; К- – нетрансгенні лінії

остаточний синтез протягом 7 хв при 72 °С. Продукти ампліфікації розділяли за допомогою електрофорезу в 1 %-му агарозному гелі та візуалізували під ультрафіолетовим світлом після фабрування етидіум бромідом [9].

Частоту трансформації експлантів обраховували для результатів трьох експериментів для кожного із обраних сортів рослин як співвідношення кількості життєздатних пагонів, отриманих після 1 та 3 місяців селекції, до загальної кількості використаних у досліді для трансформації експлантів, помножене на 100 %. Достовірність даних підтверджували за допомогою *t*-критерію Стьюдента для 5 %-го рівня значущості.

Результати та їх обговорення. Найвищу частоту трансформації спостерігали для картоплі сорту Левада після 1 місяця культивування на селективному середовищі МСК-С1, яка становила 75 %, тоді як частота трансформації картоплі сорту Світанок за такий самий проміжок часу становила 62,7 %. Частота трансформації томатів після 1 місяця селекції була меншою, ніж картоплі, і становила 13,4 та 6,8 % для томатів сорту Мані Мейкер та Лагідний відповідно (рис. 2). Під час подальшої селекції трансформованих регенерантів картоплі та томату протягом 2 місяців кількість життєздатних трансформантів зменшилась і становила 30,2, 24,5, 8,1 та 3,98 % для сортів Левада, Світанок, Мані Мейкер та Лагідний відпо-

відно (див. рис. 2). Такі значення частоти трансформації є досить високими та збігаються з даними, отриманими іншими дослідниками [10–13].

Після 3 місяців селекції у присутності канаміцину життєздатні проростки картоплі пересажували на середовище МСК-Р, а проростки томату — на середовище МСТ-Р (див. таблицю). У дані середовища вже не додавали канаміцин, але вони містили цефотаксим у концентрації 300 мг/л для елімінації залишків агробактерії. На цих середовищах протягом 1 місяця пагони проростків інтенсивно росли і розвивалися, що сприяло утворенню достатньої кількості рослинного матеріалу для виділення геномної ДНК та проведення молекулярно-генетичного аналізу.

В кінцевому підсумку для ПЛР-аналізу було відібрано 23 рослини картоплі сорту Левада, 25 рослин сорту Світанок і 35 рослин томату сорту Мані Мейкер та 43 рослини сорту Лагідний. У результаті було підтверджено наявність гена *hLF* в лініях трансформованих рослин для кожного із зазначених сортів. Типові результати молекулярно-генетичного аналізу з доказами наявності гена лактоферину в проаналізованих трансгенних лініях обох видів рослин наведені на рис. 3. Оскільки раніше було показано, що трансгенні лінії картоплі, які продукують людський лактоферин, характеризуються високою антибактеріальною активністю проти ряду збудників захворювань людини [14], а аналогічні трансгенні лінії томатів виявляють стійкість до вірусу скручування листя та бронзуватості листків, спричинюваних бактерією *Ralstonia solanacearum* [15], нами проведено попередню оцінку стійкості проаналізованих ліній рослин до фітопатогенів грибного походження. Згідно з результатами дослідів, трансгенні лінії картоплі та томатів мають підвищену стійкість до фітофторозу.

Таким чином, нами отримано генетично модифіковані лінії чотирьох сортів картоплі та томату, перш за все української селекції, що несуть ген *hLF*. Отримані трансгенні лінії картоплі сортів Левада та Світанок і томату сортів Мані Мейкер та Лагідний з геном *hLF* можуть у подальшому бути використані для широкого аналізу їх стійкості до фітопатогенів бактеріального та грибного походження з метою створення нових сортів, стійких до таких небезпечних хвороб рослин, як фітофтороз або фузаріоз.

Робота виконана за підтримки проекту “Застосування гена лактоферину для створення стійких до фітопатогенів ліній рослин родини Solanaceae” цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України “Молекулярні та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства” (2015–2019 рр.)

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Tomato diseases identification, biology and control: A color handbook. 2 ed.: Blancard D., Laterrot H., Marchoux G., Candresse Th. (Ed.). London: Manson Publ. Ltd, 2012. 688 p.
2. Fiers M., Edel-Hermann V., Chatot C., Alabouvette C., Steinberg Ch. Potato soil-borne diseases. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 2012. **32**. P. 93–132. doi: <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0035-z>
3. Yemets A.I., Tanasienko I.V., Krasnylenko Yu.A., Blume Ya.B. Plant-based biopharming of recombinant human lactoferrin. *Cell Biol. Int.* 2014. **38**. P. 989–1002. doi: <https://doi.org/10.1002/cbin.10304>
4. Жук В.П., Олійник Т.М., Ємець А.І., Блюм Я.Б. Регенерація українських сортів картоплі та їх генетична трансформація синтетичними *CRY*-генами. *Актуальні проблеми прикладної генетики, селекції та біотехнології рослин*: Зб. наук. праць Никіт. бот. саду. (Ялта, 3–6 лист. 2009). Ялта, 2009. Т. 131. С. 197–201.

5. Танасієнко І.В., Бузіашвілі Н., Ємець А.І., Блюм Я.Б. Агробактеріальна трансформація томатів (*Solanum lycopersicon*) геном лактоферину людини. *Фактори експ. еволюції організмів*. 2014. **15**. С. 246–250.
6. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. **15**. P. 473–497. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
7. Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 1968. **50**. P.151–158. doi: [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)
8. Rogers S., Bendich A. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Mol. Biol.* 1985. **5**. P. 69–76. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00020088>
9. Tanasienko I.V., Yemets A.I., Pirko Y.V., Korhkovyy V.I., Abumhadi N., Blume Ya. B. Generation of transgenic barley lines producing human lactoferrin using mutant alpha-tubulin gene as the selective marker. *Cyt. Genetics*. 2011. **45**, № 1. P. 3–10. doi: <https://doi.org/10.3103/S0095452711010026>
10. Veale M.A., Slabbert M.M., Van Emmenes L. *Agrobacterium*-mediated transformation of potato cv. Mnandi for resistance to the potato tuber moth (*Phthorimaea operculella*). *South Afr. J. Bot.* 2012. **80**. P. 67–74. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.02.007>
11. Frary A., Earle E.D. An examination of factors affecting the efficiency of *Agrobacterium*-mediated transformation of tomato. *Plant Cell Rep.* 1996. **16**. P. 235–240. doi: <https://doi.org/10.1007/BF01890875>
12. Soto N., Enríquez G.A., Ferreira A., Corrada M., Fuentes A., Tiel K., Pujol M. Efficient transformation of potato stems segments from cultivar Désirée, using phosphinothricin as selection marker. *Biotechnol. Apl.* 2007. **24**. P. 139–144.
13. Sharma M.K., Solanke A.U., Jani D., Singh Y., Sharma A.K. A simple and efficient *Agrobacterium*-mediated procedure for transformation of tomato. *J. Biosci.* 2009. **34**, № 3. P. 1–11. doi: <https://doi.org/10.1007/s12038-009-0049-8>
14. Chong D.K.X., Langridge W.H.R. Expression of full-length bioactive antimicrobial human lactoferrin in potato plants. *Transgenic Res.* 2000. **9**, Iss. 1. P. 71–78. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1008977630179>
15. Lakshman D.K., Natarajan S.S., Mandal S., Mitra A. Lactoferrin-derived resistance against plant pathogens in transgenic plants. *J. Agricult. Food Chem.* 2013. **61**, № 48. P. 11730–11735. doi: <https://doi.org/10.1021/jf400756t>

Надійшло до редакції 07.06.2018

REFERENCES

1. Blancard, D., Laterrot, H., Marchoux, G. & Candresse, Th. (Eds.). (2012). Tomato diseases identification, biology and control: A color handbook. 2 ed.: London: Manson Publ. Ltd.
2. Fiers, M., Edel-Hermann, V., Chatot, C., Alabouvette, C. & Steinberg, Ch. (2012). Potato soil-borne diseases. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 32, pp. 93-132. doi: <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0035-z>
3. Yemets, A. I., Tanasienko, I. V., Krasnylenko, Yu. A. & Blume, Ya. B. (2014). Plant-based biopharming of recombinant human lactoferrin. *Cell Biol. Int.*, 38, pp. 989-1002. doi: <https://doi.org/10.1002/cbin.10304>
4. Zhuk, V. P., Oliynyk, T. M., Yemets, A. I. & Blume, Ya. B. (2009, November). Regeneration of Ukrainian potato varieties and their genetic transformation with synthetic *CRY*-genes. Proceedings of the Actual problems of applied genetics, breeding and biotechnology of plants. Zbirnyk nauk. prats Nikit. bot. sadu (pp. 197-201), Yalta (Vol. 131) (in Ukrainian).
5. Tanasienko, I. V., Buziashvili, N., Yemets, A. I. & Blume, Ya. B. (2014). *Agrobacterium*-mediated tomato (*Solanum lycopersicon*) transformation with human lactoferrin gene. *Faktyory exsp. evoliutsii orhanizmviv*, 15, pp. 246-250 (in Ukrainian).
6. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15, pp. 473-497. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
7. Gamborg, O. L., Miller, R. A. & Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.*, 50, pp. 151-158. doi: [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)
8. Rogers, S. O. & Bendich, A. J. (1985). Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molec. Biol.*, 5, pp. 69-76. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00020088>
9. Tanasienko, I. V., Yemets, A. I., Pirko, Y. V., Korhkovyy, V. I., Abumhadi, N. & Blume, Ya. B. (2011). Generation of transgenic barley lines producing human lactoferrin using mutant alpha-tubulin gene as the selective marker. *Cyt. Genetics*, 45, No. 1, pp. 3-10. doi: <https://doi.org/10.3103/S0095452711010026>

10. Veale, M. A., Slabbert, M. M. & Van Emmenes, L. (2012). *Agrobacterium*-mediated transformation of potato cv. Mnandi for resistance to the potato tuber moth (*Phthorimaea operculella*). South Afr. J. Bot., 80, pp. 67-74. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.02.007>
11. Frary, A. & Earle, E. D. (1996). An examination of factors affecting the efficiency of *Agrobacterium*-mediated transformation of tomato. Plant Cell Rep., 16, pp. 235-240. doi: <https://doi.org/10.1007/BF01890875>
12. Soto, N., Enriquez, G. A., Ferreira, A., Corrada, M., Fuentes A., Tiel K. & Pujol, M. (2007). Efficient transformation of potato stems segments from cultivar Désirée, using phosphinothricin as selection marker. Biotechnol. Appl., 24, pp. 139-144.
13. Sharma, M. K., Solanke, A. U., Jani, D., Singh, Y. & Sharma, A. K. (2009). A simple and efficient *Agrobacterium*-mediated procedure for transformation of tomato. J. Biosci., 34, No. 3, pp. 1-11. doi: <https://doi.org/10.1007/s12038-009-0049-8>
14. Chong, D. K. X. & Langridge, W. H. R. (2000). Expression of full-length bioactive antimicrobial human lactoferrin in potato plants. Transgenic Res., 9, Iss. 1, pp. 71-78. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1008977630179>
15. Lakshman, D. K., Natarajan, S. S., Mandal, S. & Mitra, A. (2013). Lactoferrin-derived resistance against plant pathogens in transgenic plants. J. Agricult. Food Chem., 61, No. 48, pp. 11730-11735. doi: <https://doi.org/10.1021/jf400756t>

Received 07.06.2018

А.Ю. Бузиашвили, А.И. Емец

ГУ “Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины”, Киев

E-mail: buziashvili.an@gmail.com

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИЙ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ И ТОМАТОВ С ГЕНОМ ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА

Проведена *Agrobacterium*-опосредованная трансформация сортов картофеля *Solanum tuberosum* украинской селекции (Левада и Свитанок) и сортов томатов *Lycopersicon esculentum* (Мани Мейкер и Лагидный) геном лактоферрина человека для повышения их устойчивости к фитопатогенам. Получены и проанализированы трансгенные линии исследуемых сортов растений. Перенесение целевого гена в геном исследуемых растений подтверждено с помощью полимеразной цепной реакции с использованием специфичных праймеров к гену лактоферрина. Предварительные данные с использованием биотестов на устойчивость к фитопатогенам продемонстрировали наличие повышенной устойчивости к фитофторозу у трансгенных линий.

Ключевые слова: *Agrobacterium*-опосредованная трансформация, ген лактоферрина человека, картофель, томаты, трансгенные линии, полимеразная цепная реакция.

A.Yu. Buziashvili, A.I. Yemets

Institute of Food Biotechnology and Genomics of the NAS of Ukraine, Kiev

E-mail: buziashvili.an@gmail.com

THE OBTAINING OF TOMATO AND POTATO PLANTS WITH HUMAN LACTOFERRIN GENE *hLF*

The *agrobacterium*-mediated transformation of different genotypes of potato (*Solanum tuberosum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) with human lactoferrin gene is conducted. Genetically modified lines of potato (Ukrainian varieties *Levada* and *Svitanok*) and tomato (*Money Maker* and *Ukrainian variety Lahidnyi*) are obtained and analyzed. The transfer and incorporation of *hLF* gene into respective plant genomes was confirmed by the *polymerase chain* reaction with specific primers to lactoferrin gene. Preliminary biotests for the phytopatogene resistance are conducted, and a higher resistance of transgenic lines to *Phytophthora* is found.

Keywords: *agrobacterium*-mediated transformation, human lactoferrin gene, potato, tomatoes, transgenic lines, *polymerase chain* reaction.