

БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

Александров О.С.

*кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
Центр молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА
имени К.А. Тимирязева*

ФИЗИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ХРОМОСОМ ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОКОПИЙНОГО ТАНДЕМНОГО ПОВТОРА ДНК HL-206

Часто высококопийные тандемные повторы ДНК занимают значительные – более 10000 п.о. – локусы на хромосомах, что позволяет детектировать их расположение с помощью метода флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). Это делает их весьма полезными с точки зрения цитогенетического маркирования и построения физических карт хромосом. При построении первичных карт такие локусы могут стать своеобразными отправными точками, наряду с такими широко используемыми цитогенетическими маркерами, как гены 45S и 5S рДНК и др.

Поиск высококопийных тандемных повторов может осуществляться разными путями. Во-первых, возможно выделение данного компонента повторяющейся ДНК с помощью центрифугирования в градиенте плотности хлорида цезия [1, с. 269]. Этот способ появился одним из первых, однако, в настоящее время его использование весьма ограничено ввиду его трудоёмкости и внушительных затрат времени. Во-вторых, тандемные повторы могут быть выделены методом рестрикционного анализа геномной ДНК [1, с. 270]. Если сайт разрезания эндонуклеазы рестрикции будет находиться внутри единицы повтора, то при электрофоретическом разделении продуктов рестрикции будет наблюдаться исчерченность профиля. Фрагменты, выделяющиеся на фоне шмера профиля, будут содержать фракцию мономеров, которые тандемно повторяются в нерестрицированной ДНК. Этот способ используется шире, чем предыдущий, однако, он позволяет выделить только те повторы, внутри которых имеется сайт рестрикции той или иной рестриктазы. Для изучения всех или большей части повторов необходимо использование большого количества рестриктаз. В-третьих, тандемные повторы выделяют с помощью биоинформатических методов на основе данных полногеномного секвенирования [2, с. 6]. Это наиболее продуктивный метод, позволяющий выявить полный спектр повторов в геноме.

Хромосомы важной сельскохозяйственной культуры – хмеля обыкновенного – изучаются с 20-х годов XX века. Однако, методы цитогенетики для их изучения применяются только в последние 15 лет. На сегодняшний день установлено, что кариотип хмеля обыкновенного включает

18 аутосом и пару половых хромосом: XX у женских растений и XY – у мужских. Две пары хромосом несут сигналы 5S рДНК (хромосомы 2 и 5) и одна – 45S рДНК (хромосома 6) [3, с. 188]. Кроме того, был выделен (с помощью рестрикционного анализа) субтеломерный *KpnI*-повтор HSR-1, который специфическим образом располагается на X хромосоме [4, с. 216].

Ввиду высокого значения хмеля обыкновенного для сельского хозяйства, геном его женского растения был секвенирован [5]. В настоящее время геномные данные представлены в базе GenBank в виде скэффолдов. Для дальнейшей сборки генома необходима разработка хромосомспецифичных цитогенетических маркеров. В представляемой работе была предпринята попытка решения этой задачи путём FISH-картирования мажорного компонента тандемных повторов. Выделение повторов-кандидатов осуществлялось с помощью биоинформационного подхода. Для скрининга скэффолдов использовалось программное обеспечение Tandem Repeat Finder [6] и авторский скрипт, позволяющий быстро выделить из массива результатов скрининга повторы, удовлетворяющие заданным параметрам (например, протяженность локуса, занимаемого повтором более 10000 п.о.).

Одним из выбранных с помощью описанного способа повторов оказался повтор с длиной мономера 206 п.о. (HL-206). Он был выделен как весьма перспективный для цитогенетического маркирования хромосом, поскольку занимает локусы в изучаемых скэффолдах протяжённостью больше 10000 п.о. Это выше порога чувствительности метода FISH, и поэтому успешная локализация HL-206 на хромосомах представлялась очень вероятной.

С помощью программы Primer3 на последовательность мономера HL-206 были подобраны праймеры. Амплификация с этими праймерами на матрице геномной ДНК хмеля обыкновенного показала типичный для тандемных повторов результат – лестницеобразные структуры при электрофоретическом разделении ПЦР-продукта. Фрагменты, детектируемые на электрофорезе, отличались по длине соответственно длине мономера – 206 п.о., то есть состояли из 1, 2, 3 и более мономеров. На основе ПЦР-продукта HL-206 был синтезирован зонд, включающий нуклеотиды с биотином. При использовании данного зонда в качестве флуоресцентного маркера на хромосомах хмеля были выявлены чёткие сигналы в прицентромерной области хромосомы 7. Таким образом, было показано, что HL-206 является хромосомспецифичным повтором и может использоваться как надёжный цитогенетический маркер для данной хромосомы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента РФ, Договор № 14.W01.17.121-МК от 22 февраля 2017 г.

Список использованных источников:

1. Хемлебен В. Сателлитные ДНК / В. Хемлебен, Т.Г. Беридзе, Л.Бахман, Я. Коварик, Р. Торрес. // Успехи биологической химии. 2003. – Т. 43. – С. 267-306.
2. Александров О.С., Карлов Г.И. Выделение тандемно повторяющихся последовательностей ДНК *Cannabis sativa* и *Ricinus communis* с помощью биоинформационного анализа // Перспективы науки. – 2012. – 11(38). – С. 5–9.

3. Karlov G.I., Danilova T.V., Horlemann C., Weber G., Molecular cytogenetic in hop (*Humulus lupulus* L.) and identification of sex chromosomes by DAPI-banding. // *Euphytica*. 2003. – V. 132. – Pp. 185-190.

4. Divashuk M.G., Alexandrov O.S., Kroupin P.Y., Karlov G.I. Molecular cytogenetic mapping of *Humulus lupulus* sex chromosomes // *Cytogenetic and Genome Research*, – 2011, – 134 (3): p. 213–219.

5. Natsume et al. в 2014. Natsume S., Takagi H., Shiraishi A., Murata J., Toyonaga H., Patzak J., Takagi M., Yaegashi H., Uemura A., Mitsuoka C., Yoshida K., Krofta K., Satake H., Terauchi R., Ono E. The Draft Genome of Hop (*Humulus lupulus*), an Essence for Brewing // *Plant and Cell Physiology Advance Access published November 20, 2014*.

6. Benson, G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences / G. Benson // *Nucleic Acids Research*. – 1999. – № 27(2). – P. 573–580.

Білокур Д.О.

аспірант;

Шейко В.І.

*доктор біологічних наук, професор,
Сумський державний педагогічний університет
імені А.С.Макаренка*

ПОКАЗНИКИ СЕНСОМОТОРНИХ ФУНКЦІЙ У СТУДЕНТІВ ПРИРОДНИЧО-МАТЕМАТИЧНОГО І СУСПІЛЬНО-ГУМАНІТАРНОГО ПРОФІЛІВ НАВЧАННЯ

Як відомо, будь-яка діяльність людини підпорядкована відповідній організації її психофізіологічних і сенсомоторних функцій [1]. У наш час, дослідженню особливостей процесу становлення і прояву основних властивостей нервових процесів надається увага широкого кола науковців [1-6]. Висвітлення експериментальних даних з вищезазначених питань має важливе практичне значення для розуміння фізіологічних механізмів інтегративної діяльності мозку, що формує індивідуальний тип поведінки людини [6].

Водночас, глибокого вивчення заслуговує питання прояву сенсомоторних функцій, їх впливу на ефективність професійної діяльності різних груп населення, у тому числі, студентів педагогічного університету, які здобувають фахову підготовку за відповідним профілем навчання [2; 5].

Саме тому метою даної розвідки є встановлення показників сенсомоторних функцій у студентів природничо-математичного і суспільно-гуманітарного профілів навчання.

Дослідження проводилось на базі Сумського державного педагогічного університету імені А. С. Макаренка. У експерименті узяв участь 41 досліджуваний природничо-математичного (ПМП) і 39 студентів суспільно-гуманітарного (СГП) профілів навчання, віком від 18 до 24 років.

Дослідження параметрів сенсомоторних функцій включало визначення характеристик латентних періодів простих зорово-моторних реакцій (ПЗМР),