

Іщенко О.О.

аспірант;

Скиданович О.І.

студент;

Панчук І.І.

*доктор біологічних наук, професор,
Чернівецький національний університет
імені Юрія Федьковича*

ОРГАНІЗАЦІЯ МІЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА 5S рДНК У ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *ACER*

Ділянка 5S рДНК присутня у геномі усіх еукаріотичних організмів і кодує 5S рРНК, що є найменшою структурною частиною великої рибосомної субодиниці. 5S рДНК належить до класу середньоповторюваних послідовностей і складається з кодувальної ділянки та міжгенного спейсера (МГС). Кодувальні ділянки є консервативними, тобто зазнають мінімальних змін в ході еволюції, в той час як МГС є більш варіабельним. Еволюційна динаміка міжгенного спейсера може відображати процеси, які мали місце під час видоутворення. Тому послідовності рибосомальних генів використовуються як молекулярні маркери, що дозволяє проаналізувати еволюційні зміни та філогенетичні зв'язки як між видами, так і в межах одного виду чи роду [1; 2].

Представники роду *Acer* поширені у Північній півкулі в зонах з доволі значним діапазоном кліматичних умов. Ця група рослин використовується у багатьох галузях людської діяльності [3]. Проте, філогенетична систематика роду ще не є достатньо вивченою.

Матеріалом дослідження були гербаризовані зразки видів *Acer opalus* та *Acer griseum* з Ботанічного саду міста Грац (Австрія). Геномна ДНК була виділена загальноприйнятим методом з використанням цетавлону [4]. В подальшому геномна ДНК використовувалась як матриця для проведення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) ділянки 5S рДНК з парою універсальних праймерів 5S-14a-Ph і 5S-15-Not, які комплементарні до ділянки, що кодує 5SpРНК у дводольних рослин [5]. Аналіз електрофореграми ПЛР-продуктів показав, що довжина 5S рДНК *A. opalus* становить близько 390 п.н., а довжина відповідної ділянки у *A. griseum* становить близько 350 п.н. Даний результат свідчить про наявність змін послідовностей у цих видів, а також про наявність лише одного варіанту 5S рДНК у обох видів, на противагу близькоспорідненого виду *A. campestre*, у якого зустрічаються як мінімум два варіанти повторів. В подальшому ПЛР-продукти клонували в плазмідний вектор та по два клони було відібрано на сиквенування.

Отримані полінуклеотидні послідовності МГС 5S рДНК клонів досліджуваних видів (по два для кожного) порівнювали між собою та з послідовностями раніше отриманих в нашій лабораторії клонів *A. pseudoplatanus*

та *A. campestre*, зразки яких було зібрано на території Чернівецької області та Болгарії відповідно.

В МГС досліджуваних видів було знайдено регуляторні елементи РНК-полімерази III. Відомо, що на початку МГС присутня консервативна полі-Т ділянка, що грає роль в термінації транскрипції. Отримані результати показали наявність заміни трьох нуклеотидів у оліго-Т послідовності в двох клонах *A. griseum*, в той час як для *A. opalus* такої заміни не спостерігається.

Також в усіх досліджуваних видах у позиціях -16 та -1 від 5'-кінця кодувальної ділянки 5S рДНК присутні пара нуклеотидів GC та високонсервативний нуклеотид C, що відносяться до регуляторних елементів. Окрім того, було знайдено шестинуклеотидну послідовність ТААГТА у позиції -28 від 5'-кінця кодувальної ділянки у всіх зразках, що ймовірно виконує роль ТАТА-боксу.

Показано, що в міжгенному спейсері присутні точкові мутації, а саме кілька транзицій та трансверсій, проте вони не зачіпають регуляторних ділянок.

Рівень подібності між клонами *A. griseum* становить 100%, в той час як між клонами *A. opalus* – 99%. Аналіз нуклеотидних послідовностей показав високу подібність між видами *A. opalus* та *A. pseudoplatanus* (94,8-95,2 %), разом з цим рівень подібності *A. opalus* з іншими видами становить від 80,4 до 81,5 %. Послідовність МГС 5S рДНК *A. griseum* також має вищу подібність з *A. pseudoplatanus* (83,8 %), ніж з *A. campestre* (78,8 %).

Філогенетичний аналіз показав, що *A. griseum* відокремився від всіх інших порівнюваних зразків набагато раніше в ході еволюції, а *A. opalus* формує окрему кладу з *A. pseudoplatanus*.

Таким чином, отримані нами дані свідчать, що у *A. opalus* та *A. griseum* присутній лише один варіант повторів 5S рДНК. Поліморфізм ділянки міжгенного спейсера генів 5S рРНК досліджуваних видів може бути використано для дослідження філогенетичних зв'язків.

Список використаних джерел:

1. Волков Р. А., Панчук І. І., Борисюк Л. Г., Борисюк М. В. рДНК рослин: організація, еволюція, застосування // Цитологія і генетика. – 2003. Т.37. №1. – С. 72-78.
2. Baum B. R., Bailey L. G. The utility of the nontranscribed spacer of 5S rDNA units grouped into unit classes assigned to haplomes – a test on cultivated wheat and wheat progenitors // Genome. – 2004. – Vol. 47. No. 3. – С. 590-599.
3. Gibbs D., Chen Y. The red list of maples // Botanic Gardens Conservation International – 2009. – No. 635.055.
4. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Mol. Biol. – 1985. – Vol. 5. – P. 69-76.
5. Volkov R.A., Zanke C., Panchuk I.I., Hemleben V. Molecular evolution of 5S rDNA of Solanum species (sect. Petota): application for molecular phylogeny and breeding // Theor. Appl. Genet. – 2001. – Vol.103. – P. 1273-1282.