

---

## ДОДАТОК

### **ВИБРАНІ ТЕЗИ ПЛЕНАРНИХ ДОПОВІДЕЙ на Х з'їзді Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова (2-6 жовтня 2017 р., Умань, Україна)**

#### **ВАЙСЕРМАН О.М.**

*ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова» НАМН України, Київ, Україна,  
e-mail: vaiserman@geront.kiev.ua*

#### **ЕПІГЕНЕТИЧНЕ ПРОГРАМУВАННЯ СХИЛЬНОСТІ ДО ХРОНІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ**

У багатьох дослідженнях виявлено, що несприятливі умови під час раннього розвитку організму можуть спричинити негативні наслідки для здоров'я у дорослому віці, включаючи підвищену схильність до онкологічних, нейродегенеративних захворювань та діабету 2 типу. Накопичується все більше доказів того, що ключову роль у цих процесах відіграють зміни на рівні епігенетичної регуляції активності генів. Епігенетично «програмуватися» у ранньому онтогенезі може й процес старіння як такий. Роль епігенетичних подій у програмуванні вік-залежних хронічних захворювань доведено у багатьох експериментальних та епідеміологічних дослідженнях. Метою цієї доповіді є висвітлення механізмів, які зумовлюють процеси епігенетичного програмування захворювань дорослого віку у ранньому онтогенезі, а також наведення емпіричних доказів, що свідчать на користь гіпотези «раннього програмування хвороб дорослого віку» (DOHaD).

#### **ВОЛКОВА Н.Е.**

*Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення, Одеса, Україна*

#### **СУЧАСНІ МАРКЕРНІ ТЕХНОЛОГІЇ В СЕЛЕКЦІЇ ТА НАСІННИЦТВІ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ РОСЛИН**

Глобальна мета селекції рослин – створення нових і удосконалення наявних сортів з підвищеною врожайністю та покращеними якостями.

У доповіді представлена історія селекції рослин: від емпіричного добору до редагування геномів.

Традиційну селекцію рослин навіть зараз описують у підручниках як «мистецтво і наука», очевидно, тому, що її кінцевий результат залежить від навичок фахівця з селекції для вибору різних властивостей рослин – так званий *breeder eye*.

Із відкриттям законів спадковості і мінливості та розвитком генетики з'явилася можливість усвідомлено управляти передачею необхідних ознак. І тепер, з недавнім розповсюдженням *omics*-технологій, ми можемо читати ДНК рослин, вивчати, як кожен ген відповідає на різні умови середовища і прогнозувати, наскільки ефективно рослина може виробляти хімічні речовини, заради яких ми їх і споживаємо.

У доповіді розглянута селекція нового покоління: геномна селекція, маркер-опосередкована селекція, біотехнології модифікації геномів. Проведено порівняння гено- і фенотипування. Розглянуто

основні види генно-інженерної зміни геному: трансгенез, інтрагенез, цисгенез, а також приклади циста інтрагенних рослин, редагування геномів, наведено приклади рослин з редагованим геномом.

## **ВОЛКОВ Р.А., ЧЕРЕВАТОВ О.В.**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, м. Чернівці, Україна,  
e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua*

### **ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ БДЖОЛИ МЕДОНОСНОЇ В УКРАЇНІ**

Вид бджола медоносна (*Apis mellifera*) охоплює 26 підвидів, які походять з Європи, Африки та Азії. Протягом еволюції потік генів між окремими популяціями цього виду неодноразово переривався, що й привело до формування сучасних підвидів та географічних рас, пристосованих до певних географічних областей. Вважається, що Україна являє собою територію природного поширення трьох підвидів, а саме – *A. m. mellifera*, *carnica* та *macedonica*. Проте сучасне генетичне різноманіття бджоли медоносною в Україні може також бути наслідком штучного завезення інших підвидів.

Внутрішньовидова систематика *A. mellifera*, яка спирається лише на морфологічні та анатомічні дані, є недосконалою внаслідок високої мінливості цих ознак. Відповідно, для надійної ідентифікації підвидів і рас необхідне застосування молекулярних маркерів. З використанням методів ПЛР-ампліфікації, рестриктазного картування, клонування та розшифрування послідовностей ДНК нами було проведено оцінку молекулярної мінливості мітохондріальних генів цитохром оксидази *Cox I* та *Cox II*. Виявлений суттєвий генетичний поліморфізм у популяціях бджоли медоносною з різних регіонів України. Шляхом порівняння власних результатів з інформацією, наявною у базі даних Genbank, встановлено належність української бджоли до підвидів *A. m. carnica* та *ligustica*.

## **ГОНЧАРОВА Р.И.**

*Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь, e-mail: R.Goncharova@igc.by*

### **МАЛЫЕ ДОЗЫ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ И ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ЧЕРНОБЫЛЯ**

Оценка биологических эффектов малых доз (<100 mGy) и очень малых доз (<10 mGy) ионизирующей радиации (ИР) привлекает пристальное внимание в последние годы. С этой целью было сформировано несколько европейских проектов, в частности Multidisciplinary European Low Dose Initiative (MELODI). Имеющиеся сейчас данные позволяют по новому взглянуть на эффективность низкодозового облучения малой интенсивности для здоровья пострадавшего населения.

Биологическая эффективность малых и очень малых доз ИР на клеточном, тканевом и организменном уровнях убедительно продемонстрирована результатами европейского RISC-RAD проекта (2004-2008 гг.). Нами установлены генетические эффекты хронического воздействия очень малых доз ИР (в диапазоне от близких к фоновым и до 10 cGy), обусловленных воздействием Чернобыльских радионуклидов, в соматических и половых клетках европейской рыжей полевки, природные популяции которой населяли радиационно загрязненные районы Беларуси (Ryabokon et al., 2005, Ryabokon, Goncharova, 2006, 2007). Генетическая радиочувствительность соматических клеток рыжей полевки и периферических лимфоцитов человека, а также половых клеток лабораторных мышей близки друг

---

другу (Гончарова, Смолич, 2002), что позволяет использовать рыжую полевку в качестве модельного объекта для оценки радиационного риска у человека. С использованием этого модельного вида нами впервые обнаружено трансгенерационное накопление радиационных повреждений и наличие геномной нестабильности на протяжении многих поколений в природных популяциях животных под воздействием хронического облучения с очень низкой мощностью дозы (Ryabokon, Goncharova, 2006, 2007).

Хорошо известен феномен прямого эффекта мощности дозы, который означает, что радиационный риск уменьшается с уменьшением мощности дозы. Принципиально важным феноменом является наличие обратной зависимости радиационного эффекта от мощности дозы (*inverse dose rate effect*), которая выявлена у млекопитающих и человека в низком диапазоне мощностей доз. Так показано, что генетическая эффективность хронического облучения рыжей полевки при очень низкой мощности доз, рассчитанная на единицу дозы, гораздо выше по сравнению с генетической эффективностью острого облучения при высокой мощности дозы (Гончарова, Смолич, 2002). Наши данные находятся в хорошем соответствии с результатами эпидемиологических исследований радиационных когорт. Канцерогенные риски хронического облучения с низкой мощностью дозы у объединенной когорты рабочих ядерной индустрии 15 стран (Cardis et al., 2007) и у когорты жителей реки Теча (Krestinina et al., 2005, 2007) оказались выше, чем канцерогенные риски у японской когорты, получившей острое облучение с высокой мощностью дозы. Изучение канцерогенного риска у объединенной когорты рабочих ядерной индустрии Франции, Великобритании и США (308 297 работников, средняя кумулятивная доза была равна 20,9 mGy, а медианная составляла 4,1 mGy) показало, что радиационный риск на единицу дозы подобен величинам, полученным для японской когорты, пострадавшей от взрывов атомных бомб (Richardson et al., 2015).

Накапливается все больше данных о том, что биологические ответы на воздействие малых и высоких доз ИР могут различаться. Так установлено, что транскрипционный ответ индуцируется под воздействием малых и очень малых доз и различается при облучении малыми и высокими дозами ИР относительно числа и типа по-разному экспрессируемых генов, в том числе у хронически облучаемых людей (RISC-RAD, 2008, Albanese et al., 2007, Fachin et al., 2009). Показано, что ИР вызывает кластерные повреждения ДНК, однако типы кластерных повреждений различаются при действии высоких и малых доз (RISC-RAD, 2008). Поскольку все население Европы подверглось воздействию Чернобыльской аварии, то корректная оценка биологических последствий малых уровней радиации необходима для прогноза здоровья десятков миллионов людей и их потомков.

**ДРОМАШКО С.Е., ШЕВЦОВА С.Н., БАБЕНКО А.С.**

*Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь e-mail: S.Dromashko@igc.by*

### **ЭКСПРЕССИЯ МЕТАЛЛОТИОНЕИНА У БРЮХОНОГОГО ЛЕГОЧНОГО МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS* L. КАК ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Как и органические загрязнители, тяжёлые металлы относят к консервативным поллютантам водной среды, губительно влияющими на устойчивое существование гидросистем. Брюхоногие моллюски представляют собой репрезентативную и экономически выгодную тест-систему для проведения биомониторинга и биотестирования. Одним из биомаркёров, используемых при оценке качества водной среды, является уровень экспрессии мРНК ряда «стрессорных» генов, отвечающих за раннее реагирование организма на неблагоприятные изменения водной среды. К ним относятся и гены низкомолекулярных белков металлотioneинов (MT), ответственных за реализацию детоксификационных механизмов в условиях поступления в организм значительных количеств тяжёлых металлов. В работе дана оценка применимости относительного уровня экспрессии мРНК гена MT у половозрелых особей *Lymnaea stagnalis* лабораторного разведения в качестве биомаркёра токсиче-

ского влияния солей свинца и кадмия в субхроническом эксперименте. Полученные результаты дают основание предполагать, что та изоформа металлотионеина, экспрессия мРНК которой значительно индуцировалась при воздействии 0,1 и 1 ПДК кадмия в 7-суточном эксперименте, возможно, является кадмий-специфичной. Полученные данные также свидетельствуют о целесообразности применения особей *L. stagnalis* лабораторного разведения для биотестирования жидких металлосодержащих отходов на основе оценки генной экспрессии методом ПЦР в режиме реального времени.

#### **КУЧУК М.В.**

*Институт клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна,  
e-mail: nkuchuk@icbge.org.ua*

### **ГЕНЕТИЧНІ МОДИФІКАЦІЇ РОСЛИН – ВІД КОРИСНИХ ОЗНАК ДО НОВИХ ЛІКІВ**

У доповіді буде розглянуто результати досліджень із отримання генетично-модифікованих рослин з корисними господарськими ознаками, особливості продукції рекомбінантних фармацевтичних білків у рослинах, створення їстівних рослин, які накопичують мікроРНК з певними лікувальними властивостями.

#### **ЛИТВИН Д.И., ФЕДЫНА В.Д., ЕМЕЦ А.И., БЛУМ Я.Б.**

*Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, Киев, Украина,  
e-mail: blume@nas.gov.ua*

### **АУТОФАГИЯ: ПУТИ ВОВЛЕЧЕНИЯ ЦИТОСКЕЛЕТА К РАЗВИТИЮ ПРОЦЕССОВ САМОПОЕДАНИЯ В РАСТЕНИИ**

Аутофагия является высококонсервативным механизмом для всех эукариот, включая растения. Цитоскелету отводится одна из ключевых ролей в реализации аутофагии. В частности известно, что микротрубочки (МТ) участвуют в биогенезе аутофагосом и их внутриклеточном транспорте для образования аутолизосом (аутофагирующих вакуолей у растений). Эти процессы опосредуются изменениями функционального состояния МТ посредством посттрансляционных модификаций входящих в их состав белков, прежде всего ацетилирования  $\alpha$ -тубулина.

Для исследования роли ацетилирования  $\alpha$ -тубулина в реализации стресс-индуцированной аутофагии была получена линия *Arabidopsis thaliana*, экспрессирующая слитый белок Atg8h-eGFP. 7-дневные проростки этой линии подвергали влиянию метаболического, осмотического и солевого стрессов, а также облучению ультрафиолетом-В (УФ-В). Было обнаружено, что использование E-64, ингибитора цистеиновых протеаз, задействованных в реализации аутофагии, усиливало негативные эффекты стрессовых факторов на показатели роста, подтверждая адаптивную роль аутофагии при стрессовом воздействии. Исследование внутриклеточной локализации белка Atg8h позволило выявить характерные особенности развития стресс-индуцированной аутофагии. Клетки контрольных растений характеризовались диффузным цитоплазматическим распределением Atg8h-eGFP. Однако вследствие влияния стрессовых факторов наблюдалось появление дискретных GFP-содержащих структур, локализующихся преимущественно в клетках корневого чехлика, эпидермиса и перицикла. Следует отметить, что предварительная обработка клеток таксоллом и нокадазолом приводила к нарушению внутриклеточного транспорта аутофагосом, подтверждая роль функционального состояния микротрубочек в реализации аутофагии. Также было показано, что под влиянием всех исследуемых

---

стрессовых факторов происходит процессинг белка Atg8 (липидация фосфатидилэтаноламином, что является признаком биогенеза аутофагосом). Влияние стрессовых факторов также имело следствием достоверное повышение уровня ацетилирования  $\alpha$ -тубулина, что подчеркивает роль этой модификации в опосредовании аутофагии у растений.

Для исследования взаимосвязи между МТ и развитием индуцированной стрессом аутофагии был проведен транскрипционный анализ профилей экспрессии генов 6-ти изоформ  $\alpha$ -тубулина и 9-ти изоформ белка *atg8* в стрессовых условиях. Было показано, что гиперэкспрессия генов некоторых изоформ *atg8* и  $\alpha$ -тубулина является стресс-регулируемой, а, следовательно, различные стрессовые факторы по-разному реализуют развитие аутофагии, индуцированной стрессом. Следует отметить, что синергическое влияние стрессовых факторов и Е-64 вызывало снижение жизнеспособности клеток растений. Полученные данные свидетельствуют об адаптивной роли аутофагии при воздействии абиотических стрессов на растительную клетку, а также свидетельствуют о ключевой роли ацетилирования  $\alpha$ -тубулина в обеспечении участия микротрубочек в развитии аутофагии.

**ЛУКАШ Л.Л.**

*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Київ, Україна,  
e-mail: lukash@imbg.org.ua*

### **МУТАГЕНЕЗ І РЕПАРАЦІЯ ПЕРВИННИХ ПОШКОДЖЕНЬ ДНК**

У 2015 році отримано Нобелівську премію за видатні досягнення в галузі репарації ДНК, що знову привернуло увагу до проблем мутагенезу і механізмів відновлення цілісності геному. В перші десятиліття після відкриття експериментального мутагенезу Г. Меллером (1927 р.) досліджували, головним чином, феноменологію і закономірності індукованого мутагенезу: фізичного, хімічного і біологічного залежно від природи факторів, що його спричиняють. Пізніше центр ваги змістився на дослідження первинних пошкоджень ДНК, молекулярні механізми мутаційного процесу і репаративні системи клітин. Відомо, що мутації можуть виникати як під впливом мутагенів, так і спонтанно, хоча в багатьох випадках важко встановити причину появи останніх. Довгий час вважали, що спонтанні мутації виникають під впливом таких чинників, як природний фон радіації і хімічні забруднювачі довкілля (крім того, ВОЗ виокремлює такий чинник як їжа, що містить суміш мутагенів і карцерогенів). Однак за літературними даними у людини лише 1/10 частку спонтанних мутацій можна віднести на рахунок зовнішнього фонового впливу. Другою вагомою причиною спонтанного мутагенезу слугують помилки, що виникають при реалізації молекулярних механізмів основних матричних процесів: реплікації, репарації і рекомбінації. Третьою і, можливо, не менш важливою причиною є переміщення у геномі людини мобільних генетичних елементів (МГЕ). За розрахунками М. Грина, зробленими при аналізі природи мутацій у дрозофіли, біля 80% спонтанних мутацій виникають внаслідок МГЕ.

Тож на відміну від індукованого мутагенезу основним джерелом спонтанних мутацій слугують первинні пошкодження ДНК, індуковані не екзогенними, а ендогенними чинниками. Серед первинних пошкоджень виокремлюють такі: 1) помилки реплікації (помилки включення і спарювання внаслідок таутомерних переходів азотистих основ, хімічні модифікації основ; 2) помилки репарації, особливо за наявності мутацій у генах, що кодують репаративні ферменти; 3) помилки рекомбінації (наприклад, унаслідок нерівного внутрішньогенного кросинговеру); 4) одно- та двониткові розриви ДНК; 5) інсерції і делеції нуклеотидних основ при транспозиціях МГЕ; 6) відщеплення окремих основ; 7) приєднання до основ алкільних груп; 8) утворення мутагенних метаболітів. Слід відзначити, що одним із найрозповсюдженіших і найшкідливіших серед індукованих первинних пошкоджень є аддукт гуаніну, що містить метильну або іншу алкільну групу в положенні O<sup>6</sup>. Первинні пошкодження, індуковані екзо- та ендогенними чинниками, виправляються до- і постреплікативними системами репарації. Існують три різні шляхи для виправлення первинних пошкоджень у клітинах: а) пряме по-

вернення до вихідного стану ДНК (наприклад, репарація алкільних аддуктів); б) вирізання з наступною заміною пошкодженої нуклеотидної послідовності; в) відновлення структури ДНК в обхід ушкодженої ділянки.

Останнім часом значна увага приділяється репарації генетичних пошкоджень у клітинах людини, зважаючи на зростання мутаційного та стресового навантаження сучасного світу. Дослідження репаративних ферментів, у тому числі ключового ензиму системи прямої репарації алкільних пошкоджень, O<sup>6</sup>-метилгуанін ДНК-метилтрансферази (MGMT), мають безпосереднє відношення до персоналізованої медицини, основною метою якої є підбір ефективних ліків для кожного конкретного пацієнта, зважаючи на профіль експресії певних генів. У відділі генетики людини ІМБГ НАН України проводяться фундаментальні дослідження, основна ідея яких полягає в реалізації впливу чинників біологічної та хімічної природи на транскрипцію гена *MGMT* або на активність самого репаративного ензиму, з точки зору оптимізації стратегії лікування злоякісних пухлин. Запропоновано використання цілого ряду біологічно активних чинників (ростові фактори, цитокіни, лектини, гормони) для модуляції експресії репаративного ензиму MGMT у клітинах людини. А в рамках проекту «СОМБІОМ» 7 рамкової програми ЄС спільно з відділом біомедичної хімії ІМБГ НАН України створено низку нових потенційних низькомолекулярних інгібіторів для пригнічення активності репаративного ензиму MGMT в клітинах злоякісних пухлин для підсилення ефективності алкілувальної хіміотерапії.

#### **МОССЭ И.Б.**

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь,  
e-mail: I.Mosse@igc.by*

### **МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА – СПОРТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ**

Важнейшими и неотъемлемыми составляющими успешной спортивной деятельности являются физические и психологические способности человека, которые на 75-85% обусловлены наследственными факторами. Следовательно, вершин мирового спорта могут достичь только те атлеты, которые обладают комплексом врожденных способностей и возможностью для их реализации. Длительные физические и психологические нагрузки зачастую приводят к травмам, наиболее частыми из которых являются костные переломы, и к различным профессиональным заболеваниям. Методы спортивной медицины в настоящее время имеют преимущественно корректирующую направленность (медикаментозные и хирургические методы лечения). В то же время выявление генетических маркеров риска развития патологий позволяет проводить профилактические мероприятия для предупреждения опасных последствий физических и эмоциональных стрессов.

Роль генов, определяющих психоэмоциональное состояние людей, изучена крайне недостаточно, между тем, оценка генетической составляющей стрессоустойчивости человека даёт возможность выявлять наиболее перспективных спортсменов. Поэтому внедрение генетического тестирования в практику отбора и подготовки спортсменов необходимо как для коррекции учебно-тренировочного процесса, так и для профилактики патологических состояний.

Нами разработана и протестирована молекулярно-генетическая технология оценки генетической предрасположенности к высоким спортивным достижениям, а также к различным патологиям, таким как тромбогенные заболевания, переломы костей, разрывы связок, психоэмоциональные нарушения и др. Выявлены варианты и комбинации генов, наиболее информативные для идентификации риска различных патологий, и в том числе стрессчувствительности. Полученные данные вносят вклад в понимание генетических механизмов процессов, ассоциированных с физической активностью человека, и позволяют проводить профилизацию спортсменов, а также профилактику развития профес

---

**СЕДЕЛЬНИКОВА Т.С.**

*Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», г. Красноярск, Российская Федерация,  
e-mail: tss@ksc.krasn.ru*

### **ИЗМЕНЧИВОСТЬ РАЗМЕРА ГЕНОМА ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ИХ ПРОИЗРАСТАНИЯ**

Отдел хвойные (Pinophyta) является самым многочисленным из современных голосеменных и включает более 600 видов из 68 родов 8 разных семейств. Хвойные занимают обширные ареалы и обладают большим по размерам (6.500-37000 Mb), сложно организованным геномом. Как и почему хвойные растения в ходе своего развития приобрели столь большой геном, остается неясным до настоящего времени. Предполагается, что изменчивость величины генома хвойных определяется совместным глобальным воздействием факторов окружающей среды, естественного отбора и мутагеназа на отдельные генетические элементы или их совокупность. Произрастание в очень разнообразных условиях среды, вероятно, в целом способствовало формированию у хвойных генома больших размеров. Возможно, на размер генома хвойных также оказала влияние древняя полиплоидия. Трансформация размера генома современных хвойных, отражающая процессы адаптации и микроэволюции представителей этой группы растений, особенно проявляется в экстремальных условиях их существования. Анализ имеющихся данных позволяет рассматривать в качестве ресурсов модификации размера генома хвойных в экстремальных местопроизрастаниях изменения числа хромосом, включающие полиплоидию, миксоплоидию, анеуплоидию, появление В-хромосом, вариабельность содержания ядерной ДНК, повторяющихся последовательностей ДНК, специфичность распределения и активности генов рибосомной ДНК, активацию мобильных генетических элементов, индукцию мутационных процессов и расширение спектра хромосомных перестроек.

**СИВОЛОБ А.В.**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна*

### **ПЕТЕЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ ХРОМАТИНУ У КЛІТИННОМУ ЯДРІ**

Просторова організація хроматину в інтерфазному клітинному ядрі привертає велику увагу, оскільки значною мірою визначає регуляцію транскрипції та інших функціональних процесів. Структурно-функціональною одиницею хроматину на найвищих рівнях його організації є петельний домен. Результати сучасних досліджень свідчать, що основи петельних доменів утримуються білками CTCF і когезиновими комплексами, а загалом інтерфазна хромосома знаходиться у глобулярному стані різних ступенів компактизації. Деякі особливості петельної організації хроматину можуть бути досліджені за допомогою електрофорезу ізольованих клітин (кометного електрофорезу). Розроблена нами модифікація цього методу дозволяє оцінювати відносну кількість петель різних типів, їхній топологічний стан, розподіл петель за розміром тощо. Наші результати свідчать, що ці параметри залежать від типу і функціонального стану клітин.

## **ЧЕБОТАР С.В.**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна,

Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення НААН України, Одеса, Україна,

e-mail: s.v.chebotar@gmail.com

### **СУЧАСНИЙ СТАН СЕКВЕНУВАННЯ ЯДЕРНОГО ГЕНОМУ ПШЕНИЦІ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)**

Зміни клімату, збільшення чисельності населення на планеті та потреба в харчових продуктах ставлять виклик перед селекціонерами і генетиками, що працюють з м'якою пшеницею. М'яка пшениця (*Triticum aestivum* L.) – сільськогосподарська культура, яка зараз є основним продуктом харчування для майже 30 % людства. Визначення повногеномних нуклеотидних послідовностей *T. aestivum* сприятиме не лише розумінню організації генетичної інформації в геномі цієї культури, а і більш ефективній селекції з отримання нових сортів, стійких до абіотичних стресів, патогенів та шкідників. Вагомі зусилля Міжнародний консорціум (International Wheat Genetics Sequencing Consortium (IWGS)) зосередив на повному секвенуванні і збірці референсного геному пшениці з сорту Chinese Spring. Секвенування гексаплоїдного ( $2n=6x=42$ ; AABBDD) – великого за розміром геному пшениці (1C – 17 000 Мпн) стало можливим завдяки створеним телосомним генетичним лініям пшениці (Sears & Sears, 1978), детально розробленій методиці з використання проточної цитофлюориметрії для отримання субгеномних й хромосомних ВАС бібліотек (Dolezel et al., 2007; Safar et al., 2010), а також завдяки сучасним технологіям секвенування «нового покоління» – 454 та Illumina. Першою була секвенована 3В хромосома як одна з найбільших хромосом геному пшениці у лабораторії К. Feuillet (INRA, м. Клермонт-Ферранд, Франція). Робота з секвенування геному пшениці включала заякорювання секвенованих послідовностей із ВАС клонів, зібраних у контіги, з фізичною картою кожної із хромосом геному пшениці за використання делеційних-бін-ліній й мікросателітних маркерів, а також із генетичною картою. Картування ВАС клонів, секвенування та повногеномне збирання скефолдів зараз виконується з використанням NRGene DeNovoMAGICTM програмного забезпечення (Appels, 2017). Очікується, що повний секвенований геном пшениці – референсний геном сорту Chinese Spring, буде опублікований у 2017 році. Але вже зараз міжнародна команда, що включає дослідників з Канади, Німеччини, США, Швейцарії, Ізраїлю, Австрії навела дані щодо ресеквенування чотирьох елітних сортів пшениці. Варіабельність за присутністю/відсутністю у цих сортів демонструють 6–8 % послідовностей генів. Два з означених сортів мають транслокацію 20 Мпн на хромосомі 2A від *Aegilops ventricosa* (Pozniak et al., 2017). З метою кращого розуміння генетичної дивергенції нуклеотидних послідовностей в геномі пшениці проводиться *de novo* секвенування і збірка геному німецького сорту 'Julius'. Китайські вчені (Jia et al., 2017) заявили, що вони використали передові технології з секвенування й збирання нуклеотидних послідовностей для видатного китайського сорту Aikang58.

Зараз для ефективного спільного аналізу та точного опису функцій секвенованих послідовностей з геному пшениці в режимі реального часу використовується Web платформа Apollo (Lee et al., 2013), створено міжнародний репозиторій з секвенованих послідовностей геному пшениці на URGI (INRA дослідницька одиниця в галузі геноміки та біоінформатики, присвячена сільськогосподарським рослинам та їхнім шкідникам) (Letellier et al., 2017), яка надає інструменти і браузері для аналізу даних з геноміки пшениці, забезпечує доступ до секвенованих послідовностей IWGSC референсного геному пшениці через JBrowse ([https://urgi.versailles.inra.fr/jbrowse/gmod\\_jbrose/](https://urgi.versailles.inra.fr/jbrowse/gmod_jbrose/)). Завдяки цьому браузеру науковці, що працюють за напрямом генетика пшениці, можуть отримувати анотовані послідовності генів, маркерів, мобільних елементів. URGI також надає доступ до всіх фізичних карт пшениці (Letellier et al., 2017).



---

**BUTKAUSKAS DALIUS<sup>1</sup>, PILINKOVSKIJ ANDREJ<sup>2</sup>**

*Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania<sup>1</sup>*

*Fisheries Service under the Ministry of Agriculture of the Republic of Lithuania, Vilnius, Lithuania<sup>2</sup>*

### **RESTORATION OF BALTIC STURGEON IN THE BASIN OF THE NEMUNAS (NEMAN) RIVER IN LITHUANIA**

The results of the implementation on the international project for the Atlantic sturgeon restoration in the Baltic Sea are considered. The mutual goal of the project implemented by Lithuanian scientists representing Nature Research Centre in collaboration with Fisheries Service under the Ministry of Agriculture of the Republic of Lithuania is the restoration of the Baltic sturgeon population in its whole former area in the Baltic Sea. Successful works on the restoration of the Baltic sturgeon population are conducted in the Oder and the Vistula basins. The stockings of the Nemunas (Neman) River with the sturgeon fry were started from 2012 year. It is expected that the sturgeon stockings of the main rivers of the Baltic Sea will enable to restore local sturgeon populations in these river basins. Till the beginning of the XXI century it was supposed that the Baltic sturgeon *Acipenser sturio* L. had inhabited the Baltic Sea, but numerous genetic analyses of the samples of the sturgeon bones from the archeological findings kept in the museums showed that the Baltic Sea had been inhabited with *Acipenser oxyrinchus* and its population still inhabits several rivers in Canada. This discovery permitted to start the creation of the Baltic sturgeon broodstock.

Despite these findings no information was available dealing with species specificity of representatives of extinct population of sturgeons catced in Lithuanian territorial waters. Therefore, two sturgeon individuals exhibited in the Tadas Ivanauskas Zoological Museum (Kaunas, Lithuania) were examined in 2014. Initially these exhibits were equated to *Acipenser sturio* species in 1960. After the genetic research based on the methodology published in 2014 by Polish scientists in the article devoted to genetic studies of sturgeon and history of their distribution in the Baltic Sea (Popovic et al., 2014) has been carried out in Lithuania it was found that exhibits from the museum are representatives of species *A. oxyrinchus*. Comparison of sequencing data of two museum-piece individuals representing extinct Baltic population appeared carry the same D-loop haplotype previously found distributed among *A. oxyrinchus* specimens representing sturgeons used in the process of population re-establishment. Results of genetic application based on the set of 9 microsatellite loci also revealed high probability to discriminate individuals obtained from different broodstocks and possibility to assign individual fishes to one of two sturgeon species and even to one of investigated samples. Comparison of molecular data of two *A. oxyrinchus* samples representing dead and survived individuals until fishes were released into rivers revealed no significant differences in allele composition and some of genetic parameters indicating possibility to use sample consisting of dead fishes collected during the process of growing as appropriate sample representing genetic pool characteristic for parental individuals that represent part of the brood stock participating in production of fry used for annual stocking. The results of molecular analysis will be used for the implementation of genetic monitoring of the restored population of *A. oxyrinchus*.

**DMYTRUK K.<sup>1</sup>, FEDOROVYCH D.<sup>1</sup>, FAYURA L.<sup>1</sup>, TSYRULNYK A.<sup>1</sup>,  
RUCHALA J.<sup>2</sup>, SIBIRNY A.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine; Lviv, Ukraine*

<sup>2</sup>*University of Rzeszow, Rzeszow, Poland*

### **GENETIC CONTROL OF RIBOFLAVIN BIOSYNTHESIS AND CONSTRUCTION OF THE EFFECTIVE PRODUCERS OF RIBOFLAVIN, FLAVIN NUCLEOTIDES AND FLAVIN ANTIBIOTICS IN THE FLAVINOGENIC YEAST *CANDIDA FAMATA***

Riboflavin (vitamin B<sub>2</sub>) is one of water-soluble vitamins. It serves as biosynthetic precursor of flavin nucleotides FMN and FAD. Some yeast species, known as flavinogenic yeasts, overproduce riboflavin under iron starvation. *Candida famata* belongs to the most effective riboflavin producers among flavinogenic yeasts. Methods of molecular genetics have been developed for *C. famata* including protocols for electroporation, recessive and dominant markers, strong constitutive and regulatory promoters, CRISPS-Cas9 method for genome editing. Regulatory gene *SEF1* has been identified which encodes putative transcription activator. Using yeast monohybrid system, it was found that Sef1 product interacts with promoters of the structural genes of riboflavin synthesis and activates their expression. Mutants of *C. famata* overproducing riboflavin have been isolated using approaches of classical selection and metabolic engineering. The best constructed strain accumulated more than 16 g of riboflavin/L during feed-batch cultivation in the laboratory bioreactor. The strains of *C. famata* overexpressed FMN or FAD have been constructed. The strains of *C. famata* expressing synthetic gene *rosB* with adapted codon of the soil bacterium *Streptomyces davawensis* have been isolated. They produced biosynthetic precursor of flavin antibiotic roseoflavin, known as aminoriboflavin. To construct yeast producer of bacterial antibiotic roseoflavin, which could be toxic to the yeast cell, regulatory promoter of *MAL2* gene have been used. This promoter is strongly induced by maltose and repressed by glucose. The yeast vector expressing gene *rosA* under control of *MAL2* promoter has been constructed and isolation of the yeast transformants producing roseoflavin is under way.

**HASTEROK R., BETEKHTIN A., BOROWSKA-ZUCHOWSKA N., BRASZEWSKA-  
ZALEWSKA A., IDZIAK-HELMCKE D., KUS A., KWASNIEWSKA J., LUSINSKA J.,  
ROBASZKIEWICZ E., SKALSKA A., SINHA R., WOLNY E., ZUBRZYCKA K.**

*University of Silesia in Katowice, Katowice, Poland, e-mail: robert.hasterok@us.edu.pl*

### **REVEALING PLANT NUCLEAR GENOME STRUCTURE, EVOLUTION AND STABILITY AT THE CYTOMOLECULAR LEVEL USING THE MODEL GRASS GENUS *BRACHYPODIUM* – CURRENT STATUS AND FUTURE PROSPECTS**

Model organisms offer the set of features, which makes them more useful in various scientific investigation than other, non-model species. *Brachypodium* genus in general and *B. distachyon* in particular represent now a widely accepted by the international research community model system to study various aspects of grass biology. The genus *Brachypodium* consists of about 20 species that have small, and for some species, already sequenced genomes with a low repeat content, different basic chromosome numbers, size, morphology and ploidy levels. *Brachypodium* species have very intriguing and to large extent still unresolved phylogeny, short life cycles and simple growth requirements, and are subject to a rapidly and continuously growing repertoire of experimental tools.

Modern molecular cytogenetics focuses on the study of various aspects of the nuclear genome organization at the microscopic level. It combines various methodological approaches of cytology, molecular genetics and advanced digital image analysis. In this presentation we focus in particular on chromosome rearrangements that have shaped the structure of *Brachypodium* karyotypes, using comparative chromosome barcoding by BAC-FISH (fluorescence *in situ* hybridisation with chromosome-specific bacterial artificial

---

chromosomes as probes). The karyotypes of selected *Brachypodium* species were compared to the model grass *B. distachyon*. Single-locus BAC clones derived from *B. distachyon* genomic libraries were selected from the assemblies of FingerPrinted Contigs that had previously been assigned to the chromosomes of *B. distachyon*. This comparative chromosome barcoding approach can be used to study the organisation of karyotypes and reconstruct mechanisms of the chromosome rearrangements that have shaped the genome structure of extant grasses.

Due to its unique cytogenetic properties and well-developed research infrastructure, *B. distachyon* is also a convenient system for analysing ‘hot spots’ (and ‘cold spots’) of DNA damage in nuclear genomes, and consequently could be used for environmental monitoring. Chromosome rearrangements are commonly identified using classical cytogenetic techniques. However, combining whole genome sequence information and BAC-FISH-based mapping technology enables comprehensive analysis of mutagenic effects at the chromosomal level and extends our understanding of the mechanisms responsible for chromosomal aberrations. We present the visualisation of mutagen-induced genome changes, including micronuclei formation and alterations of chromosome territories in interphase nuclei using FISH with selected chromosome-specific BAC clones, as well as ribosomal DNA and chromosome region-specific (centromeric and telomeric) probes. Some other current research will also be outlined.

Financial support from the National Science Centre Poland (grants no. 2012/04/A/NZ3/00572, 2014/14/M/NZ2/00519 and 2015/18/M/NZ2/00394) is acknowledged.

**RASHAL ISAAK, GRAUDA DACE, KRASNEVSKA NIKOLE**

*Institute of Biology, University of Latvia, Latvia, e-mail:izaks.rasals@lu.lv*

#### **USE OF FLOW CYTOMETRY FOR INVESTIGATION OF PLANT GENOMIC RESPONSE IN ECOLOGICAL STUDIES**

Ecological studies of plants, including endangered plant species in natural conditions and different types of plants growing in the urban environment, are among fast growing natural research fields. Growing plants are subject to the influence of different types of biotic and abiotic stresses. Depending of the stress character plant response could be cell damage, increase of cells oxidative stress, changing level of endopolyploidy etc. The flow cytometry is a powerful investigation method on the cellular level, because it is based on measurement of relative cell fluorescence what reflected cell conditions. In ecology studies flow cytometry is used to determine cell ploidy and gender, to sort living cells from apoptotic, counting fluorescent nanoparticles, and to detect an overall impact of various factors on cells by examining cell self-fluorescence. Flow cytometry is a biophysical technology employed in cell counting, cell sorting, biomarker detection, and protein engineering. Flow cytometry works through suspending cells in a stream of special fluid, exciting them by laser light and passing them through a detection device. It allows making multiparametric (up to 20 parameters) analysis of thousands of cells per second. In our laboratory we used BD FACSJazz® cell sorter (BD Biosciences, USA) with flow cytometer function to measure the relative fluorescence of plant cells. For cell excitation the 488 nm Coherent Sapphire Solid State (blue) laser are applied. Cells’ relative fluorescence was measured at 530 nm and 585 nm. The information of mean fluorescence intensity from the purified cell suspension samples was recorded. Preliminarily, multiple gate sizes and shapes were tested to find the one with the lowest CV. Using flow cytometer BS FACS Software 1.0.0.650 cells plot was construed to determine the densest part that was later gated using oval-shaped gate. The gate included from 95 to 99% of all target cells. Different naturally and in urban conditions growing plant species – Siberian ligularia *Ligularia sibirica*, lime trees *Tillia cordata*, white clover *Trifolium repens*, were included in investigations. In they turn, in experimental conditions influence of such factors, as the low frequency (50–60 Hz) electromagnetic field, UV irradiation and SiO<sub>2</sub> nanoparticles were studied on the cellular level in different types of plant tissue cultures of several species – lime trees (*Tillia cordata*), cyclamen (*Cyclamen persicum*), wheat (*Triticum aestivum*), barley (*Hordeum vulgare*), flax (*Linum usitatissimum*).

Investigation was supported partly by the Latvian State Research Programme “EVIDenT”