

*that the use of Richards models provides for all evaluated genotypes 2,93-4,75% level for the actual data and 3,85-6,26% – with predictable growth curve. The conducted study of the effectiveness of the use of mathematical models to describe the process of growth of pigs of different genotypes showed that the optimal model is the use of Bridges (6 periods), which describe with precision allows to predict the dynamics of live weight in subsequent ages. Richards model also accurately describes the age dynamics of body weight, but is less suitable for forecasting*

*Key words: models of growth, ontogenesis, the exponential growth rate, the kinetic growth rate, genotype, live weight.*

УДК.636.619:5784.082

**Горбатенко І.Ю.**, доктор біологічних наук  
Миколаївський національний аграрний університет

## **ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ В СЕЛЕКЦІЇ СВИНЕЙ В УМОВАХ ГЛОБАЛЬНОГО ПОТЕПЛІННЯ**

*Рецензент – доктор сільськогосподарських наук В.П.Рибалко*

*Представлений клас РНК-термометрів, що є одним з типів регуляторних РНК. Послідовності РНК, які локалізовані в області 5'UTR (untranslated region, не-трансляюча область), що кодують біосинтез поглинання або деградацію малих метаболітів та забезпечують контроль зворотного зв'язку для цих шляхів метаболізму.*

*Ключові слова: РНК-термометри, температура, глобальне потепління, свині, теплові білки, рН, селекція, генетика, стійкість.*

Глобальне потепління є незворотнім процесом планетарного значення, який веде до погіршення умов існування живих організмів, в тому числі, і основних сільськогосподарських видів, що відіграють значну роль в харчуванні людства. Цій проблемі присвячено багато праць, але стосовно конкретних видів рослин і тварин нами була знайдена невелика їх кількість. Так, в роботах [1, 2] представлений матеріал по дослідженню впливу глобального потепління на реакцію генотипу свині на дію високих температур. В 1999 році [3] вказав на існування так званого фактору r32, який вбудований в РНК-термометр. Було припущення, що цей фактор відіграє значну роль в регуляції бактерій на дію підвищених температур. Тому метою наших досліджень було визначення локалізації цього фактору в геномі мікроорганізмів та можливість їх використання при проведенні селекційних генетичних досліджень в галузі свинарства при підвищенні температури довкілля.

**Матеріали і методи.** При проведенні роботи були використані домашні сторінки цих баз даних у мережі інтернет:

GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Web/Genbank/index.html>

EMBL Database: <http://www.ebi.ac.uk/embl/index.html>

DDBJ: <http://www.nig.ac.jp.home.html>

**Результати й обговорення.** Мікроорганізми, що вільно живуть, часто піддаються зміні умов навколишнього середовища. Температура, рН, наявність живильних речовин постійно змінюються. Для запобігання важких наслідків температурних коливань у бактерій розвинуто складну сітку захисних механізмів – в якості потенційних температурно-чутливих елементів у природі використовуються компоненти від мембрани до молекул ДНК, РНК та білків. Важливо, що патогенні мікроорганізми часто

реагують на температуру близько 37 °С індукцією експресії генів вірулентності. Часто регуляція генів, що контролюють середовище, здійснюється на рівні транскрипції через дію регуляторних протеїнів. Проте недавно відкрито декілька посттранскрипційних механізмів, що базуються на молекулах РНК. Стало зрозумілим, що певні молекули тРНК є не тільки субстратом для рибосом, але й містять контрольні елементи, які модулюють їхню власну експресію залежним від умов чином. Структурні зміни в таких сенсорних РНК обумовлені специфічними навколишніми змінами. Розрізняють два принципово різних класи: цис-діючі РНК-елементи, регуляторний потенціал яких знаходиться всередині послідовності мРНК, та транс-діючі, малі, некодуєчі молекули РНК, які функціонують через спарювання нуклеотидів з комплементарними послідовностями мРНК, локалізованими в інших локусах геному. На відміну від класичних атенуаторів, які регулюють структуру лідерної послідовності РНК відповідно до позиції транслуючої рибосоми, цис-діючі РНК змінюють свою конформацію у відповідь на фізичні або хімічні сигнали. Так звані рибоперемікачі здійснюють моніторинг метаболічного стану клітини через зв'язування з високою специфічністю та афінністю з метаболітами. Вони локалізовані в області 5'-UTR (untranslated region, нетранслуюча область) генів, що кодують біосинтез, поглинання або деградацію малих метаболітів та забезпечують контроль зворотного зв'язку для цих шляхів метаболізму. Їхня структура складається з області рецептора (8-членного олігонуклеотида), яка характеризується консенсусною послідовністю, що специфічна до молекули субстрату, та вихідної області (основа для експресії). Зв'язування малої молекули штовхає конформаційний перемикач, що змінює експресію гена одним з трьох можливих механізмів: а) передчасною термі-нацією транскрипції; б) ініціацією трансляції або в) процесингом мРНК (рис.). Більшість рибоперемікачів виключають експресію у зв'язаному стані. Проте знайдено незначну кількість перемикачів, що включають експресію генів.

На відміну від високоспецифічних рибоперемікачів, що зв'язуються з метаболітами, близькоспоріднений тип сенсорних мРНК – РНК-термометри – діють у відповідь на загальний фізичний сигнал, а саме на внутрішньоклітинну температуру, яка є важливим параметром, що впливає зокрема на експресію генів, які кодують протеїни теплового та холодного шоку, та генів вірулентності і знаходиться під постійним контролем дуплексів. Добре відомою характеристикою нуклеїнових кислот є те, що вони плавляться при підвищенні температури. Отже, зсув температури здатний модулювати конформацію регуляторних молекул РНК, тобто перехід фрагментів молекули з конформації внутрішньомолекулярної шпильки до одноланцюгового стану.

Наразі відомо низку РНК-термометрів, що структурно та функціонально відрізняються, які контролюють розмаїття клітинних процесів. Всі відкриті молекулярні термометри, які можуть бути цис- або транс-діючими, здійснюють контроль трансляції через ізоляцію ділянки, що зв'язує рибосому (рис.), та більшість з них локалізовані в 5'-UTR бактеріальних генів теплового шоку або генів вірулентності. При низькій температурі SD-послідовність (5'-AAGGAG-3'; 5'-raggag-3' – консенсусна послідовність для прокаріотів; 5'-уугсу-3' – для грамнегативних бактерій) маскується (знаходиться всередині шпилькової структури (рис.)). Підвищення температури дестабілізує шпилькову структуру таким чином, що сайт зв'язування рибосоми (SD-послідовність) стає доступним, що дозволяє ініціацію трансляції (AUG – стартовий кодон ініціації трансляції).

Перший РНК-термометр, який діє через механізм плавлення, знайдено в гені *groH* *E. coli*, який кодує альтернативний сигма-фактор  $\sigma^{32}$ , або RpoH.

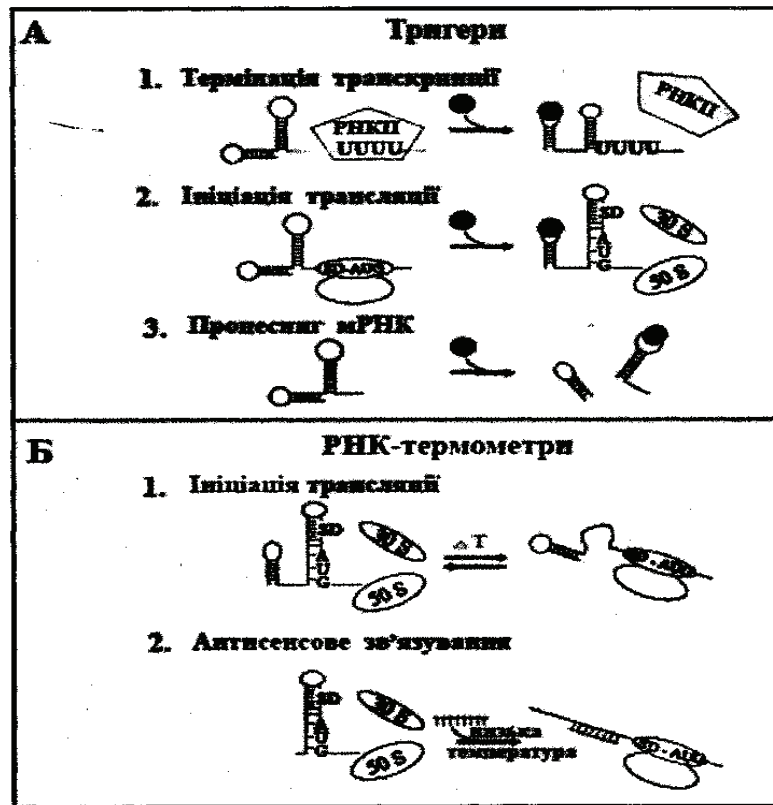


Рис. Схема регуляторних принципів рибоперемикувачів (тригерів) та РНК-термометрів, що базуються на шпилькових структурах. РНКП - РНК-полімераза; SD – послідовність Шайн-Дальгарно; 30S та 50S - субодиниці рибосоми;  $\Delta T$  – зміна температури; • – метаболіт. [4]

Альтернативний сигма-фактор RpoS відіграє центральну роль в регуляції асоційованих з вірулентністю зовнішніх поверхневих протеїнів OspC та OspA при захворюванні Лайма (Lyme disease), викликаному спірохетою *Borrelia burgdorferi*. Температура є одним з ключових параметрів навколишнього середовища, що контролюється RpoS, а невелика некодуєча молекула РНК, DsrA<sub>B</sub>, регулює збільшення кількості RpoS в результаті зміни температури. Було висловлено гіпотезу, що DsrA<sub>B</sub> знаходиться у стабільній вторинній структурі за T = 23 °C, при якій не відбувається спарювання нуклеотидів з groS-транскриптом. Після зсуву температури вторинна структура малої молекули РНК плавиться, що веде до зв'язування анти-SD-області rpoS мРНК. Це може стимулювати трансляцію через вихід SD-послідовності та сайту ініціації трансляції з вторинної структури в rpoS мРНК в умовах вірулентності (37 °C).

Можливо, найрозповсюдженішим бактеріальним РНК-термометром є ROSE-елемент, який пригнічує експресію генів теплового шоку. Він був знайдений у численних А- та В-протеобактеріях, в тому числі для *E. coli* та *Salmonella*. ROSE-елемент, маючи довжину від 60 до 100 нуклеотидів (н.), локалізований, як правило, в 5'-UTR генів теплового шоку. Його доволі складна структура включає 2-4 шпилькові структури, одна з яких містить SD-послідовність та в деяких випадках також стартовий кодон AUG. Іншим широко розповсюдженим РНК-термометром є 4U-елемент, який спочатку було знайдено в малому гені *agsA*, гені теплового шоку, *Salmonella*. Передбачена структура містить дві шпильки, при цьому чотири уридинових залишки утворюють нуклеотидні пари з SD-послідовністю. Експериментально було підтверджено залежне від температури плавлення однієї зі шпильок, а зв'язування рибосоми з SD-послідовністю відбувається тільки за температур теплового шоку.

4U-елемент часто використовують для контролю генів теплового шоку та вірулентності бактерій, оскільки він може невизначено зв'язуватися з фрагментом 5'-AGGA-3' SD-послідовності. Так, повністю підтверджено гіпотезу контролю за допомогою РНК-

термометра для гена *IcrF (virF) Yersinia*, який кодує регулятор відгуку вірулентності. Трансляція гена не відбувається за температури 26 °С, але індукується за  $T = 37$  °С. Аналіз регуляторних принципів відомих РНК-термометрів показав, що для їхнього функціонування необхідно, щоб тільки декілька нуклеотидів утворювали некомплементарні зв'язки з нуклеотидами SD-послідовності або фланкуючої області для запобігання зв'язування рибосоми. Це означає, що в природі повинні існувати інші, ще невідкриті типи РНК-термометрів. І за допомогою біоінформатичного аналізу отримані підтвердження цієї гіпотези. Синтез ефективних штучних РНК-термометрів став іншим доказом цього припущення. Але в багатьох випадках молекулярні деталі механізму чутливості бактерій до зміни температури є ще неповністю зрозумілими.

**Висновки.** З представленого матеріалу очевидно, що існують послідовності, які визначають стійкість організму на дії високих температур і відіграють роль протекторів в їх онтогенезі. Це вказує на те, що є можливості на молекулярному рівні змінювати геном тварини, а саме, вставкою цих послідовностей, або культивуванням мікроорганізмів-симбіотиків, які можна використовувати в біотехнологіях отримання біологічно-активних речовин, які при підвищених температурах докільця знижують негативний вплив високої температури на живі організми.

### БІБЛІОГРАФІЯ

1. І.Ю. Горбатенко, М.Г. Тищенко. Деякі аспекти селекційно-генетичних досліджень у свавців на прикладі свині при глобальному потеплінні / І.Ю. Горбатенко, М.Г.Тищенко // Збірник наукових праць «Національний науково-селекційний генетичний центр з вівчарства». Асканія Нова. 2014, 7, с. 120-125.

2. І.Ю. Горбатенко, М.Г. Тищенко. Реакція різних статевих-вікових груп свиней на дію температурного фактору в умовах глобального потепління / І.Ю. Горбатенко, М.Г.Тищенко // Одеський аграрний університет. Аграрний вісник Причорномор'я, 68, с. 68-72.

3. Morita M.T. Translational induction of heat shock transcription factor r32:evidence for a built-in RNA thermosensor/ M.T. Morita [et al.]// Genes Dev. – 1999. – Vol. 13, №6. – P. 655-665.

4. Narberhaus, F. RNA thermometers / F. Narberhaus, T. Waldminghaus, S. Chowdhury// FEMS Microbiol Rev. – 2006. – Vol. 30. – P. 3-16

**Горбатенко І.Ю.** Перспективы использования методов молекулярной биологии в селекции свиней в условиях глобального потепления

*Представлен класс РНК-термометров, являющийся одним из типов регуляторных РНК. Последовательности РНК локализованные в области 5'UTR (untranslated region, нетранслирующая область), кодирующих биосинтез поглощения или деградации малых метаболитов и обеспечивают контроль обратной связи для этих путей метаболизма.*

*Ключевые слова: РНК-термометры, температура, глобальное потепление, свиньи, тепловые белки, рН, селекция, генетика, устойчивость.*

**I.Yu.Gorbatenko.** Perspectives of using methods of molecular biology in the selection of pigs under conditions of global warming

*Here we present the class of RNA thermometers which are one type of regulatory RNA. RNA sequences localized in 5'UTR (untranslated region) encoding the biosynthesis of degradation or the absorption of small metabolites and provide feedback for the control of these metabolic pathways.*

*Key words: RNA thermometers, temperature, global warming, pigs, global warming, pH, breeding, genetics, resistance.*