

**ВИКОРИСТАННЯ МІЖМІКРОСАТЕЛІТНИХ
ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО
ПОЛІМОРФІЗМУ ПОПУЛЯЦІЙ РОСЛИН**

Гук С. Ю., Прокоп'як М. З., Грицак Л. Р., Дробик Н. М.

Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

E-mail: mosula@chem-bio.com.ua

Наукове співтовариство накопичило значний обсяг даних про ефективність використання молекулярно-генетичних маркерів у дослідженнях рослин. Ці дані виявилися корисними для вирішення різноманітних завдань у галузі генетики, селекції рослин, збереження біорізноманіття, дослідження механізмів еволюції, картування геному й інших галузях. Сучасні технології для виявлення поліморфізму на рівні ДНК включають аналіз рестрикційних фрагментів ДНК (RFLP) і методи, які використовують полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) для ампліфікації ДНК й ін. У 1983 році винахід Кері Малліса методу ампліфікації ділянок ДНК за допомогою повторюваних температурних циклів став ключовим проривом у створенні нових типів ДНК-маркерів. Використання як маркерної системи нуклеотидної послідовності ДНК дозволяє тестувати генетичний поліморфізм безпосередньо на рівні генів.

Більша частина геному еукаріот складається із ряду монотонних повторів, найпоширенішими з яких є міні- і мікросателіти. Мікросателіти – це повторювальні ди-, три-, тетра- і пентануклеотидні мотиви. Більшість з цих послідовностей еволюціонує нейтрально, проте деякі з них піддаються «динамічним мутаціям», еволюціонуючи швидше, ніж інші ділянки геному. Деякі мікросателіти можуть бути зчеплені з генами, наприклад, брати участь у зв'язуванні білків рекомбінації у відповідних сайтах хроматину. Одними із часто використовуваних є ISSR-маркери (Inter Simple Sequence Repeats), які розроблені на основі міжмікросателітних ділянок ДНК. Цей підхід використовує широко поширені мікросателіти, розподілені по всьому геному еукаріотів; вони є гіперваріабельними, домінантними маркерами, які націлені на

кілька ділянок геному одночасно [1]. Для створення ISSR-маркерів використовують праймери довжиною 15–24 нуклеотидів, які складаються з коротких 2–4 нуклеотидних повторів і є комплементарними мікросателітам. Їх використання не потребує попереднього проведення клонування і секвенування послідовностей для підбору праймерів [3]. ISSR-ПЛП можна використовувати для вивчення міжвидової і внутрішньовидової мінливості, ідентифікації видів й популяцій. Нами виділені такі перевагами використання ISSR-маркерів як: необхідні невеликі кількості ДНК для проведення аналізу, технологічна процедура швидка, проста і економічно вигідна, не потрібна попередня інформація про нуклеотидну послідовність матричної ДНК. Поряд з цим можна виокремити недоліки цього методу: неможливо розрізнити гетеро- і гомозиготи, супутня міграція (однакові за розміром фрагменти ДНК на електрофорезі можуть мати різну нуклеотидну послідовність) й ін.

У зв'язку із елімінацією видів сьогодні відбувається скорочення біорізноманіття. Під впливом антропогенних факторів відбувається незворотній і некомпенсований процес руйнування генофонду планети, оскільки швидкість вимирання видів у багато разів більший, у порівнянні із природними процесами зникнення видів. Проблема збереження і раціонального використання біологічного різноманіття стала однією з пріоритетних для різних країн світу, оскільки порушення біоти призведе до втрати гомеостазу біосфери. Особлива роль у вирішенні екологічних проблем відводиться дослідженням у галузі популяційної біології, оскільки для збереження видів важливе значення має вивчення їх популяцій, а саме їх генетичної компоненти.

Метою роботи було вивчення генетичного поліморфізму популяцій *Gentiana lutea* L. з Чорногірського масиву Український Карпат з використанням ISSR-маркерів. Матеріалом для дослідження обрано дикорослі рослини із двох природних популяцій *G. lutea*, які локалізуються на горах Шешул-Павлик (Sh), полонині Лемська (Lem) й однієї агропопуляції на горі Пожижевська (Pozh) в Українських Карпатах. У роботі за основу було взято метод виділення ДНК Rogers S. O. і Bendich A. J., дещо модифікований Спірідоною К. В. Молекулярно-

генетичний аналіз проводили методом ISSR-ПЛР. Протестовано 13 ISSR-праймерів, а для роботи із зразками ДНК *G. lutea* було відібрано 9 (5' AGA GAG AGA GAG AGA GT 3', 5' AGA GAG AGA GAG AGA GG 3', 5' GAG AGA GAG AGA GAG AT 3', 5' GAG AGA GAG AGA GAG AC 3', 5' ACA CAC ACA CAC ACA CG 3', 5' AGA GAG AGA GAG AGA GYC 3', 5' GAG AGA GAG AGA GAG AYT 3', 5' ACA CAC ACA CAC ACA CYG 3', 5' DBD ACA CAC ACA CAC AC 3' (D = A/G/T)). Продукти ПЛР фракціонували електрофорезом в 1,3 % агарозному гелі в буфері 1×SB. Для статистичного аналізу даних ПЛР-аналізу застосовували програми GenAlEx 6.5.

ISSR-праймери забезпечували синтез фрагментів у межах 250–3300 п. н.: популяція з г. Пожижевська – 250–3300 п. н., з пол. Лемська – 250–2200 п. н., з гір Шешул і Павлик – 270–3200 п. н. Враховано 206 амплікони, з них 123 – для рослин з популяції на пол. Лемська, 141 – з г. Пожижевська і 116 – з гг. Шешул-Павлик. Кількість унікальних фрагментів коливалася від 16 до 32, а фіксованих – від 35 до 50. Відсоток поліморфних ампліконів для природних популяцій становила 39,8 %, для популяції з г. Пожижевська була вищою – 41,7 %. Порівняння досліджених популяцій показало, що очікувана гетерозиготність й індекс Шеннона були приблизно однаковими для популяцій з пол. Лемська і з гг. Шешул-Павлик, а дещо нижчі в агропопуляції ($0,138 \pm 0,008$, $0,207 \pm 0,011$ відповідно). За показником частка поліморфних ампліконів популяції рангувалися: Lem \geq Pozh \geq Sh. Встановлено, що значення основних показників генетичного поліморфізму позитивно корелюють з чисельністю популяцій. За показниками генетичного поліморфізму (He, S) не виявлено достовірних відмінностей між популяціями з пол. Лемська і з гг. Шешул-Павлик. Ці популяції мають подібну щільність, ростуть у схожих умовах (амплітуда висот, орієнтація і крутизна схилу), фітоценотичне оточення. Очевидно, що сукупність цих чинників зумовлює відсутність відмінностей між ними за рівнем генетичного поліморфізму.

Отже, з використанням міжмікросателітних ділянок ДНК вивчено генетичне різноманіття популяцій *G. lutea* з Чорногірського масиву Українських Карпат. Встановлено значення основних показників генетичного поліморфізму трьох

популяцій і кореляції між генетичними й еколого-географічними параметрами популяцій дослідженого виду.

Список літератури

1. Gemmill C. E. C., Grierson E. R. P. Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR), Microsatellite-Primed Genomic Profiling Using Universal Primers. *Methods Mol Biol.* 2021. Vol. 2222. P. 249–262. doi: 10.1007/978-1-0716-0997-2_14.
2. Yu F., Yu F., Li R., et al. Inhibitory effects of the *Gentiana macrophylla* (Gentianaceae) extract on rheumatoid arthritis of rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 2004. № 95. P. 77–81.
3. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics.* Canada, 1994. № 20 (2). P. 176–183.

УДК 611.018.53:618.48:57.086.13:577.121.7

**ВПЛИВ L-КАРНІТИНУ НА УТВОРЕННЯ АКТИВНИХ
ФОРМ КИСНЮ В ЯДРОВІСНИХ КЛІТИНАХ КОРДОВОЇ
КРОВІ ПРИ КРІОКОНСЕРВУВАННІ**

Зубов П. М., Зубова О. Л.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,
м. Харків

E-mail: pmzubov@gmail.com

Значущим проривом у галузі трансплантації гемопоетичних прогеніторних клітин (ГПК) стало використання кордової крові людини (КК), яка отримується при народженні дитини [1]. Всезростаюча увага з боку вчених і лікарів до використання КК призвела до необхідності створення кріобанків, у яких зразки зберігаються в замороженому стані за температури -196°C . Проте, процеси обробки кріопротекторами та заморожування-відігрівання можуть викликати неконтрольоване утворення в клітинах активних форм кисню (АФК) з подальшим розвитком деструктивних процесів [3]. Тому додавання до кріозахисного середовища антиоксидантів повинно сповільнити розвиток оксидативного стресу і, таким чином, покращити результати кріоконсервування [2].