

### Матеріали «Біологічної секції Гамовської конференції 2020»

У межах XX Міжнародної Гамовської конференції-школи, що мала назву «Астрономія та за її межами: астрофізика, космологія та гравітація, фізика високих енергій, фізика астрочастинок, радіоастрономія та астробіологія» й проходила з 9 по 16 серпня 2020 р. у Одеському національному університеті імені І.І. Мечникова (м. Одеса, Україна), 13.08.2020 відбувалася робота Біологічної секції: «Важливість ідей Г. Гамова для біології 21-ого століття».

У роботі секції брали участь відомі науковці, аспіранти та студенти, що ведуть дослідження в області молекулярної біології, генетики з України, Казахстану, Німеччини. Секція проводила свою роботу в on-line режимі на платформі Zoom. Було представлено 14 усних доповідей, серед них доповіді – «Просторовий генетичний код: структурна організація хроматину в клітинному ядрі» – професора, д.б.н. А.В. Сиволоба – автора відомого сучасного підручника «Молекулярна біологія» (кафедра загальної та медичної генетики навчально-наукового центру «Інституту біології та медицини», Університет імені Т. Шевченка, м. Київ); «Молекулярний поліморфізм генів цитохром С оксидази та поширення видів *Apis mellifera* в Україні» – професора, д.б.н. Р.А. Волкова – завідувача кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича; доповідь «Молекулярна селекція злаків: здобутки та перспективи» к.б.н. В.М. Корзуна – провідного співробітника по міжнародним науковим відносинам однієї з найбільших селекційних фірм Європи – KWS SAAT SE & Co. KGaA (м. Айнбек, Німеччина), професора Р.М. Календаря – випускника ОНУ, завідувача лабораторією геноміки рослин та біоінформатики Національного біотехнологічного центру (м. Нур-Султан, Казахстан), який більше 10 років займався молекулярно-генетичними розробками в Університеті м. Гельсінкі (Фінляндія); доповідь д.с.-г.н. Н.А. Мулюкіної – заступника директора з науки Національного наукового центру Інституту виноградарства і виноробства імені В.Є. Таїрова НААН України та ще багато інших цікавих доповідей.

Відмічаємо високу якість та актуальність виконаних на сучасному рівні досліджень та доповідей молодих та починаючих науковців: О.В. Ридкіна зі співавторами з Львівського Національного університету імені Івана Франка (м. Львів, Україна), які розглядали «Мутації генів посттранскрипційної модифікації тРНК *miaA* і *miaB*, що ведуть до зміни реакцій на стресові чинники у *Streptomyces albus* SAM2»; доповідь Д. Сірохи і співавторів, в якій були представлені результати роботи з повноекзомного секвенування та його аналізу, що виконані у спільних наукових дослідженнях у трьох наукових установах м. Києва – в Інституті молекулярної біології та генетики НАН, Інституті харчової біотехнології та геноміки НАН України, та Українському науково-прак-

тичному центрі ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів та тканин МОЗ України – у доповіді було присвячено увагу "Аналізу патогенних мутацій, виявлених за результатами повноекзомного секвенування зразків пацієнтів з орфанними хворобами»; зацікавили доповіді – к.б.н. М. Нестеркіної із співавторами «Генотоксичний ефект терпеноїдів та їх похідних на *Drosophila melanogaster*» (Одеський національний політехнічний університет та ОНУ імені І. І. Мечникова) й аспірантки О.О. Іщенко «Застосування 5S рДНК для з'ясування таксономічного статусу *Avenella .exuosa*» (Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича). На високому науковому рівні були представлені роботи аспірантів кафедри генетики та молекулярної біології ОНУ імені І. І. Мечникова – Попович Ю. А., Топораша М. К., Жарікової Д.О. В умовах напруженої епідеміологічної ситуації спричиненої поширенням COVID-19, актуальною була доповідь к.б.н. Т. Г. Вербицької (Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії, м. Одеса, Україна) про «Молекулярні механізми патогенезу COVID-19».

Як позитивну рису роботи біологічної секції було відмічено багатоплановість охопленої тематики, що має генетичне підґрунтя, та перспективність досліджень, що виконуються на стику наук, а також зручність проведення конференцій on-line в умовах пандемії. Тези наукових доповідей наведені нижче.

UDK 577.212.2:

**Sivolob A. V.**

ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, проспект Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна, sivolob@univ.kiev.ua

### **"SPATIAL GENETIC CODE": STRUCTURAL ORGANIZATION OF CHROMATIN IN THE CELL NUCLEUS**

Chromatin in the interphase nucleus of eukaryotic cells is organized into complex three-dimensional structures, the higher order levels of which now begin to be better understood. An important progress has been made in the last decade due to development of chromosome conformation capture (3C) and related methods, which allow mapping of interactions between distant chromatin loci. Comprehensive genome-wide interaction maps obtained by one of the most advanced variations of 3C-methods, the Hi-C technique, demonstrated two important features of the chromatin organization. First, chromatin is partitioned into segregated compartments of several megabases in size, the formation of which has been shown to be dependent on the patterns of epigenetic marks. Second, the compartments contain topologically associating domains (TADs), within which frequency of interactions between chro-

matin loci is relatively high while the interactions are relatively infrequent across a boundary between TADs. A large part of TADs is represented by loops, which frequently connect promoters and enhancers. The loop ends are typically anchored by the insulator protein CTCF and cohesin complex provided that the CTCF-binding motifs at the loop ends lie in the convergent orientation. The loops are dynamic structures that appear in an energy consuming process of "loop extrusion". The distributions of the loop length were shown to be exponential, with the distribution parameter, the loop density, to be dependent on the cell type and functional state. In other words, the distribution may be considered as a signature of structural rearrangements of chromatin that underlie functional changes. Our studies showed that some large-scale features of the loop domain organization (and re-organization) are preserved after cell lysis and may be detected due to relatively simple technique, the comet assay.

UDK 577.21

**Kalendar R. N.**

BI Plant Genomics Laboratory, Institute of Biotechnology, Viikki Biocenter,  
University of Helsinki, P.O. Box 56, Viikinkaari 4, FIN-00014 Helsinki, Finland,  
e-mail: ruslan.kalendar@helsinki.fi

## **MOBILE ELEMENTS AND MOLECULAR MARKERS**

The retrotransposons – the mobile genetic elements comprise the bulk of all genomes of eukaryotes. They generally show widespread chromosomal dispersion, variable copy number and random distribution in the genome. Retrotransposons move to new chromosomal locations via an RNA intermediate, and insert new cDNA copies back into the genome. In higher plants, more than half of the repetitive DNA consists of retrotransposons, a component dynamic by its ability to integrate new copies and facilitate to homologous recombination. They dynamic and playing role in chromosome crossing over recognition and in recombination DNA between homologous chromosomes. Different retrotransposon families, each with its own lineage and structure, have the potential to have been active at distinct phases in the evolution of a species. The sequences of retrotransposons carry the promoters, which bind the nuclear factors of initialization of a transcription and initiated the RNA synthesis by polymerases II and III. The most part of retrotransposon sequences are inactivated by mutations and partially transcribed. The different variants of retrotransposons can be completely inactive, seldom or constantly active. In natural populations of plants activity of the majority retrotransposon much more above, than at cultivated, domestic forms. High polymorphism at the natural populations, revealed by PCR use based on conservative retrotransposons sequences are hidden in pheno-

type. Retrotransposons can be used for markers because integration of a daughter copy creates new joints between genomic DNA and the conserved LTRs. Various molecular marker systems have been developed that exploit the ubiquitous nature of these genetic elements and their property of stable integration into dispersed chromosomal loci that are polymorphic within species. To detect polymorphisms for retrotransposon insertions, marker systems generally rely on PCR amplification between the retrotransposon termini and some component of flanking genomic DNA. The main methods of IRAP, REMAP, RBIP, and SSAP all detect the polymorphic sites at which the retrotransposon DNA is integrated into the genome. Marker systems exploiting these methods can be easily developed and are inexpensively deployed in the absence of extensive genome sequence data. Here, we describe protocols for the IRAP, REMAP and iPBS techniques, including methods for PCR amplification with a single primer or with two primers, agarose gel electrophoresis of the product using optimal electrophoresis buffers, we also describe iPBS techniques for the rapid isolation of retrotransposon termini and full-length elements.

UDK 631.527

**Korzun V. N.**

KWS SAAT SE & Co. KGaA, Einbeck, Germany

### **MOLECULAR BREEDING IN CEREALS: CURRENT ACHIEVEMENTS AND FUTURE PERSPECTIVES**

At the beginning of the 21st century, humanity is faced with the problem of reliably providing sufficient food for the growing population of the planet against the backdrop of shrinking land resources and a changing climate. In this context, genomics and especially related molecular genetic technologies play an important role in the creation of new plant varieties that optimally combine high and stable yields with resistance to abiotic stresses and biotic factors of the cultivation environment. Over the past decade, molecular marker technology has provided a wide range of innovative approaches to improve the efficiency of modern breeding strategies and methods. The availability of new molecular tools and technologies has a significant impact on the planning and development of the critical elements of breeding required to accelerate this time-consuming and laborious process. Monitoring of genetic diversity associated with successful breeding, targeted use of plant genetic resources, examples of specific applications of molecular markers in cereal breeding, the potential of genomic selection and the use of genomics and gene edits in cereal breeding will be presented and discussed using the example of cereals.

UDC 634.836.7:632.4

**Muljukina<sup>1</sup> N. A.,  
Pečenka<sup>2</sup> J.,  
Geretskij<sup>1</sup> R. V.,  
Eichmeier<sup>2</sup> A.**

<sup>1</sup>National Scientific Center «Tairov Research Institute of Viticulture and Wine-Making»,

NAAS of Ukraine, 40 let Pobedi str., 27, Odesa, 65496, Ukraine

<sup>2</sup>Mendel University in Brno, Zemědělská 1/1665, Brno, 613 00, Czech Republic

### **FUNGI ASSOCIATED WITH GRAPEVINE TRUNK DISEASE – ESCA – IN UKRAINE**

Grapevine trunk diseases are the most destructive diseases of grapevine for the past three decades with yield losses nearly 30 – 50 %.

One of the grapevine trunk diseases, esca is caused mostly by a complex of fungal pathogens including *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium* species, *Cadophora* ssp. and *Fomitiporia mediterranea*. Foliar symptoms mainly appear in *Vitis vinifera* L. cvs, whereas in rootstock varieties endophytic lesions manifest more clearly.

Esca found in all viticultural regions in Ukraine during last 20 years. The disease is poorly understood, the causative agents were not detected. To visually determine a level of esca infestation of each plant, distribution of affected plants into 4 groups by a degree of foliar symptoms manifestation (1- pre-esca, 2 - 30% of foliage damage, 3 - 4 up to 50 and up to 100% of foliage damage, respectively) was proposed.

To evaluate the state of rootstock varieties, assessment of endophytic symptoms, which most often appeared in the form of concentric xylem lesions, was used.

Visual assessment of rootstock varieties clones bred at NSC “Tairov Research Institute of Viticulture and Wine-Making” showed the absence of external and endophytic symptoms of esca disease. In Dobrinja rootstock variety both external (from pre-esca to overall canopy damage) and endophytic symptoms were manifested.

DNA identification of fungi was performed via amplification and sequencing of internal transcribed spacer (ITS) of ribosomal genes. To amplify ITS region, ITS1 and ITS4 primers were used as recommended by White et al. (1990). Conditions for PCR amplification were used as described in Eichmeier et al. (2016). The PCR products corresponding to the size 550 bp were sequenced as described by Eichmeier et al. (2010).

Ukrainian samples without esca symptoms showed a presence of *Cadophora luteo-olivacea*, (3 isolates) one of the typical species associated with esca and Petri diseases. Esca-affected samples also showed the presence of *Eutypa lata* (causal agent of Eutypa dieback) and *Botryosphaeria dothidea* (causal agent of Botriosphae-

ria dieback) which were absent in asymptomatic plants. On symptomless samples *Diaporthe viticola*, the causal agent of Phomopsis dieback was found out, too. Thus, the causative agents of all grapevine trunk diseases were identified on Ukrainian rootstocks samples.

УДК 616.9.-036.22.615.37

**Вербицька Т. Г.**

Інститут стоматології та щелепно-лищевої хірургії,  
Одеса, Україна, tg.verbitska @ gmail.com

### **МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ПАТОГЕНЕЗУ COVID-19**

Поява вірусу SARS-CoV-2 і пов'язаного з ним захворювання COVID-19 викликало серйозні загрози громадському здоров'ю. Дані показують, що 80% інфекцій COVID-19 протікають в легкій або безсимптомній формі, в той час як приблизно 15% є тяжкими та вимагають додавання кисню, а 5-10% - критичними, що характеризуються SARS з гострим респіраторним дистрес-синдромом (ARDS) і вимагають штучної вентиляції легенів у відділенні інтенсивної терапії [3].

SARS-CoV-2 являє собою одноланцюговий + РНК-оболончатий вірус, забезпечений на зовнішній поверхні глікопротеїнами. S-глікопротеїн присутній у вигляді тримера і містить дві функціональні субодиниці: субодиниця S1 включає рецептор-зв'язуючий домен (RBD) і відповідає за розпізнавання рецептора ACE2 господаря, субодиниця S2 включає механізм злиття, який забезпечує злиття вірусу з клітинною мембраною [1]. Вірус SARS-CoV-2 проникає в клітину, з'єднуючись з рецептором ACE2, який експресується клітинами тканин легенів, кишечника, нирок, судин, слизової оболонки ротової порожнини. Ген ACE2 людини картований на X-хромосомі. Білок ACE2 є цинк-залежною пептидазою, що є ферментом реніна-ангіотензинової системи і грає ключову роль в регуляції артеріального тиску. [5]. Протеази-господарі для становлення S-білка, зв'язування з рецептором і проникнення в клітину включають трансмембранну протеазу типу 2 серина 2 (TMPRSS2), а також катепсину L, катепсину B, трипсин, фактор X, фурин і еластазу [2]. На поверхні клітин людини SARS-CoV-2 взаємодіє і з білком CD147[4].

Особливості SARS-Cov-2 пов'язані зі значними змінами в структурі S1 субодиниці його S-білка, які потенційно можуть бути відповідальні за притаманну вірусу високу трансмісивність і безліч імунних конфронтацій, що обтяжують перебіг інфекційного процесу. Створення ефективної вакцини, спрямованої на консервативні антигени бета-коронавірусів, допоможе обмежити поширення і запобігти COVID-19 або хоча б послабити їх перебіг.

### Список літератури

1. Astuti I, Ysrafil. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response / I. Astuti Ysrafil. // *Diabetes Metab Syndr.* – 2020. – Vol. 14(4). – P. 407-412.
2. Hoffmann M. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor / M. Hoffmann, H. Kleine-Weber, S. Schroeder et al. // *Cell.* – 2020. – Vol. 181(2). – P. 271-280.
3. Verity R. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis / R. Verity, L. C. Okell, I. Dorigatti et al. // *Lancet Infect Dis.* – 2020. – Vol. 20. – P. 669–677.
4. Wang K. et al. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein // *bioRxiv.* – 2020.– 03.14.-988345.
5. Xu H. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa / H. Xu, L. Zhong, J. Deng, J. Peng et al. // *Int J Oral Sci.* – 2020. – Vol. 12(1). – P.8.

UDK УДК 577.21:616.6

**Sirokha<sup>1</sup> D.,  
Gorodna<sup>1</sup> O.,  
Rayevsky<sup>1,2</sup> A.,  
Lozhko<sup>1</sup> D.,  
Livshyts<sup>1</sup> G.,  
Zelinska<sup>3</sup> N.,  
Livshits<sup>1</sup> L.**

<sup>1</sup> Institute of Molecular Biology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine (IMBG), Kyiv, Ukraine, Zabolotnoho str., 150

<sup>2</sup> Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, Kloviskyi descent, 13A

<sup>3</sup> Ukrainian Scientific and Practical Center for Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, Ukraine, Osypovskoho str., 2A

### **PATHOGENICITY ANALYSIS OF MUTATIONS DETECTED AFTER WHOLE EXOME SEQUENCING IN PATIENTS WITH ORPHAN DISEASES**

The identification of pathogenic mutations in genome of patients with orphan monogenic disorders is a main goal not only for causative gene identification but for clinical diagnosis. Sequencing of the DNA extracted from patients' biological samples using Next Generation Sequencing (NGS) is a basic technology for such purposes. On the other side, abundance of detected Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) after NGS poses a new problem – correct segregational and pathogenicity analysis necessary for annotation of disease causing mutation.

The aim of our work was to identify pathogenic mutation detected after Whole Exome Sequencing (WES) in patients with different orphan diseases from Ukraine.

After filtering and segregation analysis of WES, VCF files of trios (patient and healthy parents), we have obtained short list of rare SNPs and analyzed rare variants for pathogenic impact on encoded proteins using bioinformatic tools: Human Splicing Finder, SIFT, PolyPhen, MutationTaster. The probability of amino acid residues phosphorylation was verified using NetPhorest 2.1, Group-based Prediction System 5.0 and PhosphoPICK.

In patient with autistic spectrum disorder, delay of stato-kinetic development and esophageal reflux the mutation in *KMT2D* gene (rs35584294) – single nucleotide insertion which leads to a frameshift and premature stop codon was identified and previously described as Kabuki syndrome. In another case in patient with syndromic Disorder of Sex Development (DSD) c.2659C>T in *STARX8* gene mutation was identified as pathogenic based on aforementioned bioinformatic tools. In the next case of patient with Androgen Insensitivity Syndrome (AIS) the novel missense mutation in Androgen Receptor (*AR*) gene (c.2507T>G) was detected after Sanger sequencing performed for patient with CAIS and identified as pathogenic. On the protein level substitution Ile836Ser may result in aberrant phosphorylation. Molecular dynamics modeling showed that phosphorylated Ser836 hinders ligand entry channel of AR, which leads to CAIS phenotype.

Thus, based on obtained results we conclude that variants identified as pathogenic may be used for updating of clinical exome panels.

UDC 577.212.3 + 595.799

**Cherevatov O. V.,**

**Volkov R. A.**

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University;

Kotsiubynski str. 2, 58012 Chernivtsi, Ukraine

### **MOLECULAR POLYMORPHISM OF CYTOCHROME C OXIDASE GENES AND DISTRIBUTION OF *APIS MELLIFERA* SUBSPECIES IN UKRAINE**

The honey bee (*Apis mellifera*) is a species that includes more than 20 subspecies inhabit Europe, Africa and Asia. Ukraine is the territory of natural distribution of three subspecies, *A. m. mellifera*, *carnica* and *macedonica*, which are represented by the Dark European, Carpathian and Ukrainian steppe breeds, respectively. However, uncontrolled import of breeding material of other subspecies and interbreed hybridization of bees can also significantly affect the genetic diversity of *A. mellifera* in Ukraine.

Monitoring the actual distribution of different subspecies/breeds of honey bee requires the use of molecular markers to identify them. In particular, mitochondrial



genes that encode different cytochrome oxidase (CO) subunits have been successfully applied for this purpose [1, 2]. Accordingly, we have used a combination of PCR amplification, sequencing and restriction mapping of genes *COI*, *COII* and spacer region between them for comparative genotyping of bees from different regions of Ukraine and reference bees obtained from breeding farms.

It was found that the sequenced regions contain several base substitutions, allowing not only identification of the subspecies *A. m. carnica*, *A. m. macedonica* and *A. m. mellifera*, but also discrimination of local honeybee populations. Molecular genotyping showed that 2 subspecies of honey bee, *A. m. carnica* and *A. m. macedonica*, are now widespread in western (Carpathian) and eastern (steppe) regions of Ukraine. *A. m. mellifera* was not found in the sampled populations. However, in contrast to the traditional point of view, in several cases Carpathian and Ukrainian steppe breeds were found in the eastern and western regions, respectively. Also, alien subspecies of bees (e.g., *A. m. ligustica*) were found. Taking together, the data demonstrate a violation of the natural distribution of honey bee subspecies in Ukraine.

#### References

1. Meixner M. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera* / M. Meixner, M. Pinto, M. Bouga, // *J. Apic. Res.* – 2013. – Vol. 52. – P. 1-28.
2. Cherevatov O. V. Molecular diversity of the *CoI-CoII* spacer region in the mitochondrial genome and the origin of the Carpathian bee / O. V. Cherevatov, I. I. Panchuk, S. S. Kerek, R. A. Volkov // *Cyt. Genet.* – 2019. – Vol. 53. – P. 13-19.

UDC 575.826

**Nesterkina<sup>1</sup> M.,  
Bilokon<sup>2</sup> S.,  
Aliksieieva<sup>2</sup> T.,  
Chebotar<sup>2</sup> S.,  
Kravchenko<sup>1</sup> I.**

<sup>1</sup>Department of Organic and Pharmaceutical Technologies, Odessa National Polytechnic University, Odessa 65044, Ukraine

<sup>2</sup>Department of Genetics and Molecular Biology, Odessa I. I. Mechnikov National University, Odessa 65082, Ukraine

#### **GENOTOXIC EFFECT OF TERPENOIDS AND THEIR DERIVATIVES IN *DROSOPHILA MELANOGASTER***

According to modern pest control, “green” methods aimed at using of natural origin compounds are being intensively implemented. In this context, special attention is focused on terpenoids and their chemically modified derivatives as candidate insecticides; however, their action mechanism is still being debated. TRP ion channels,

acetylcholine esterase, octopamine receptors along with insect genetic apparatus are among molecular targets of terpenoids. Bearing in mind the aforementioned, the aim of the present study is to explore the toxic impact and genotoxicity of terpenoids and their derivatives in *Drosophila melanogaster*, as well as their influence on the endoreduplication of polytene chromosomes.

The effect of mono- and bicyclic terpenoids containing either alicyclic or aromatic rings and differing in the position of substituents and their nature (guaiacol, eugenol, borneol, menthol and carvacrol) was investigated on the viability of *D. melanogaster* and their influence on the multiplication of the nuclear genome. Among all tested compounds, carvacrol demonstrated the most significant impact on fecundity and insect survival when inhaled or adding to the culture medium. Oral administration of carvacrol had an impact on giant chromosomes increasing their average level of chromosome polyteny degree.

Considering the most toxic effect of carvacrol, the structure of this terpenoid was modified by its ethers synthesis (propyl-, butyl, octyl- and benzyl derivatives). The fertility and viability of fruit flies were assessed after oral administration (0.05% to culture medium) and inhalation exposure (5 mg per 1 cm<sup>2</sup> of polyvinyl alcohol film) of initial carvacrol and its ethers. The influence of terpenoid and its derivatives on the degree of chromosomes polyteny in salivary gland cells of *D. melanogaster* larvae has been revealed. Oral administration of carvacrol ethers was found to decrease the average level of chromosome polyteny degree (366C-500C) while pure carvacrol adding to culture medium had the opposite effect (763C) compared to control (695C).

In conclusion, we may emphasize that among all tested terpenoids carvacrol possess the greatest impact on reproduction potential of insects and their viability either after oral administration or inhalation exposure of the terpenoid. Genotoxicity of carvacrol ethers was expressed as a rise in frequency of dominant lethal mutations along with the influence on chromosome polyteny degree indicating that these products are potential agents for pest control.

УДК 579.258

**Ридкін О. В.,  
Кошла О. Т.,  
Осташ Б. О.**

Львівський національний університет ім. Івана Франка,  
вул. Університетська, 1, Львів, Львівська область, 79000, Україна,  
budarahta@gmail.com

### **МУТАЦІЇ ГЕНІВ ПОСТТРАНСКРИПЦІЙНОЇ МОДИФІКАЦІЇ ТРНК *miaA* І *miaB* ВЕДУТЬ ДО ЗМІНИ РЕАКЦІЙ НА СТРЕСОВІ ЧИННИКИ У *STREPTOMYCES ALBUS* SAM2**

Посттранскрипційні модифікації нуклеозидів тРНК є абсолютно необхідними для нормального функціонування цих молекул. Часткова чи повна відсутність деяких модифікацій може приводити до порушення точності та ефективності білкового синтезу, що веде до виникнення феноменів вищого порядку, як-от порушення стресової відповіді чи вірулентності у бактерій, виникнення мітохондропатій у людини. Довгий час практично нічого не було відомо про процеси модифікацій тРНК в стрептоміцетів – важливих продуцентів антибіотиків. За попередні роки співробітникам нашої лабораторії вдалось отримати та описати властивості мутантів *S. albus*, дефектних за генами *miaA* та *miaB*, що контролюють модифікацію позиції A37 більшості тРНК з антикодоном ХХА[1]. Зважаючи на не до кінця вивчений плейотропний прояв мутацій, поставлено за мету з'ясувати реакцію мутантів  $\Delta miaA$ ,  $\Delta miaB$  та  $\Delta miaAB$  на оксидативний стрес та стійкість до деяких антибіотиків. Виявлено, що мутація гена *miaA* підвищує чутливість *S. albus* до діаміду. При тривалому культивуванні (8-10 діб) виявляли появу колоній в стерильних зонах від дисків з антибіотиками (новобіоцин 5 мкг, ристоміцин 30 мкг, апраміцин 30 мкг на диск) для штамів  $\Delta miaA$  та  $\Delta miaAB$ , тоді як для дикого типу такого практично не спостерігали. Більшість колоній не виявляла набутої стійкості до відповідних антибіотиків при подальших пересівах. Ми припускаємо, що причиною виникнення таких колоній є пристосування частини популяції до дії антибіотиків, яке може бути викликане підвищенням містрансляції білків в мутантних штамів.

#### Список літератури

1. Koshla O. Gene *miaA* for post-transcriptional modification of tRNA<sub>XXA</sub> is important for morphological and metabolic differentiation in *Streptomyces* / O. Koshla, O. Yushchuk, I. Ostash et al. // *Mol Microbiol.* – 2019. – Vol. 112(1). – P. 249–265. doi:10.1111/mmi.14266

UDC 577.113.5:582.542.11

**Ishchenko<sup>1</sup> O. O.,  
Mel'nyk<sup>1,2</sup> V. M.,  
Kunakh<sup>2</sup> V. A.,  
Volkov<sup>1</sup> R.A.**

<sup>1</sup> Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University; Kotsiubynski str. 2, 58012 Chernivtsi, Ukraine

<sup>2</sup> Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine; Zabolotnogo str., 150, 03143 Kyiv, Ukraine

### **APPLICATION OF 5S rDNA FOR CLARIFICATION OF TAXONOMIC STATUS OF *AVENELLA FLEXUOSA***

Poaceae is one of the largest and economically important monocot families, which comprises more than 11 000 species. This family has a complex phylogenetic history including numerous rearrangements of species into different tribes and/or genera. One of the open questions is the taxonomic status of *Avenella flexuosa* (L.) Drejer also known as *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin. or *Lerchenfeldia flexuosa* (L.) Schur. Whether this species belongs to the *Deschampsia* genus has long been a subject of debates. Molecular markers are a convenient tool for assessing the genetic variability. In plants, the 5S rDNA intergenic spacer (IGS) can be used to evaluate relationship between closely related species, populations, and sometimes even between individuals. Accordingly, we cloned and sequenced this region of the *A. flexuosa* genome and estimated the genetic distances between this species and other representatives of the Poaceae tribe.

Our data show that the IGS of *Avenella* contain sequence motives, which are similar to that ones, involved in 5S rDNA transcription regulation in species from other families of angiosperms [1]. These motives include putative “TATA”-box, GC and C elements, which are involved in the transcription initiation, as well as an “oligo-T region” required for termination.

It has been also revealed that two structural classes of 5S rDNA repeated units are present in the genome of *A. flexuosa*. The 5S rDNA IGS of *A. flexuosa* and *D. antarctica* demonstrate a low level of sequence similarity, which is not higher than their similarity with the IGS of other members of the Poaceae tribe. On the phylogenetic tree, the 5S rDNA clones of *A. flexuosa* and *D. antarctica* are combined into two separate groups. Thus, our results supports the view that *A. flexuosa* belongs to a separate genus *Avenella*.

#### **Список літератури**

1. Douet J. Transcription of the 5S rRNA heterochromatic genes is epigenetically controlled in *Arabidopsis thaliana* and *Xenopus laevis* / J. Douet, S. Tourmente // Heredity. – 2007. – Vol. 99. – P. 5-13.

UDC 575.17:575.113.2:633.34

**Popovych<sup>1</sup> Yu. A.,  
Blagodarova<sup>2</sup> O. M.,  
Chebotar<sup>1,2</sup> S. V.**

<sup>1</sup>Odesa I. I. Mechnikov National University, Ukraine, 65082, Odesa, Dvoryanska str. 2

<sup>2</sup>Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigations, Ukraine, 65036, Odesa, Ovidiopol'ska dor., 3.

### **POLYMORPHISM OF *GLI-B1* GENES AMONG THE MODERN UKRAINIAN BREAD WINTER WHEAT VARIETIES**

A set of 44 modern Ukrainian winter bread wheat varieties from different selection and breeding stations have been described by different electrophoretic specters and analyzed by using allele-specific PCR with primers, which were proposed by Zhang et al. (2003), to *Gli-B1*, loci.

Six allelic variants of gliadins were revealed by using acid PAAG electrophoresis (by Poperelya methodology and classification (Poperelya, 1989; 2002)). The most common allelic variants in studied set of varieties were Gld-1B1 and Gld-1B3, which have been detected in 20 and 18 varieties respectively. Two varieties Schedra nyva and Govtva were characterized by Gld-1B4 allelic variant. Gld-1B2 allelic variant has been described only in Bilotserkivska napivkarlykova. Two types of new allelic variants according to Poperelya classification were detected.

Using PCR method with allele-specific primers developed by Zhang et al (2003) the polymorphism by the length of amplification fragments have been described. All 20 varieties with allelic variant Gld-1B1 were characterized by *Gli-B1.1* allele with amplification fragment 369 bp. Any amplification fragments for varieties with allelic variant Gld-1B3 were not detected due to the presence of 1RS/1BL translocation. *Gli-B1.2* allele and four different by length amplification were detected only for six varieties. Bilotserkivska napivkarlykova (Gld-1B2 allelic variant) have amplification fragments *Gli-B1.2* with size 409 bp, Schedra nyva and Govtva (Gld-1B4) have *Gli-B1.2* with 397 bp, for varieties with new allelic variants Zymoyarka and Myronivska slava *Gli-B1.2* allele with 397 bp had been detected.

УДК 577.21:575.22:632.4:581.2

**Топораш<sup>1</sup> М. К.,  
Чеботар<sup>1,2</sup> С. В.,  
Моцний<sup>2</sup> І. І.,  
Благодарова<sup>2</sup> О. М.,  
Сурділль<sup>3</sup> П.**

<sup>1</sup>Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, вул. Дворянська 2, Одеса, 65082 Україна, e-mail: toporash93@gmail.com

<sup>2</sup>Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення, Україна, 65036, Одеса, Овідіопільська дорога 3, e-mail: s.v.chebotar@gmail.com, motsnyyii@gmail.com

<sup>3</sup>Національний інститут агрономічних досліджень, Франція, 63039, Клермон-Ферран, Шемин де Бол'є 5.

### **МАРКЕРНА СЕЛЕКЦІЯ В ІНТРОГРЕСИВНІЙ ГІБРИДИЗАЦІЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) З 1R ХРОМОСОМОЮ ЖИТА (*SECALE CEREALE* L.)**

Житня (*Secale cereale* L.) хромосома 1RS широко застосовується при інтрогресивній гібридизації з м'якою пшеницею (*Triticum aestivum* L.) для інтрогресії генів стійкості до бурої іржі (*Lr26*), борошнистої роси (*Pm8*), жовтої іржі (*Yr9*), "вірусу" смугастої мозаїки пшениці (*Wsm*), а також ген стійкості до тлі (*Gbr*) (Graybosch et al., 2001; Merker et al., 2000). Підтверджено позитивний вплив житньої хромосоми на врожайність пшениці та її резистентність до несприятливих погодних умов. (Zarco-Hernandez et al., 2005; Howell et al., 2014; Ehdaie et al., 2003). Разом з поліпшенням стійкості м'якої пшениці до хвороб та інших негативних чинників, 1RS транслокація має негативний вплив на якість борошна через інтрогресію локусу *Sec-1*, що кодує кластер генів –  $\alpha$  і  $\omega$ -секалінів та втрату гліадинових та глютенінових локусів на хромосомах пшениці першої гомеологічної групи (Dhaliwal, MacRitchie, "1992"). Попри це, лінії "1RS.1BL" "1RS.1 L транслокаціями вважаються надзвичайно цінним генетичним матеріалом для поліпшення м'якої пшениці.

Мета роботи – визначити молекулярно-генетичний поліморфізм за короткими плечами хромосоми 1R в лініях м'якої пшениці, що несуть 1RS.1BL транслокацію або (1B)1R заміщення з різних джерел; ідентифікувати рекомбінантні за короткими плечами 1R і 1B хромосом лінії м'якої пшениці, створені із застосуванням ph1b-мутанта сорту Chinese Spring.

Дослідження поліморфізму проводили на сортах і лініях м'якої пшениці, що містять 1R хромосому жита різного походження. Лінія RavonMA1 з 1RS.1BL транслокацією містить модифіковану А. Лукашевським житню (1R) хромосому. При гібридизації двох ліній октоплоїдного тритикале було ство-

рено лінію "Salmon" (Tsunewaki, 1964). Сорт жита Ворон CXI "служував джерелом 1RS хромосоми для лінії H273/97. 1RS.1BL хромосома сорту м'якої пшениці Аврора замістила 1BS.1BL хромосому в лінії H242/97-2. Лінія CWXs була створена після схрещування ліній H273/97 та H242/97-2. У другому блоці наших досліджень досліджували 63 оригінальні пшеничні лінії BC1F8, отримані від схрещування та бекросування інтрогресивної лінії Erythrospertum 125/03 (E125/03) та "ph1b-мутанта Chinese Spring (CSph1b), "створені п.н.с0 6.н. І. І. Моцним. Для визначення поліморфізму 1RS хромосоми різного походження застосували ПЛР-аналіз з використанням молекулярно-генетичних маркерів до хромосоми 1RS жита (*Sec-1*, *Xscm9* Xtsm\_422), та 1BS хромосоми пшениці (*Xgwm18* та *Xtaglgap*). Для ідентифікації рекомбінантних хромосом залучили 8 молекулярних маркерів 1RS хромосоми жита (*Sec1Gene*, *Sec1Pro*, *AF1/AF4*, *IB-267*, *NOR*, *PAW161*, *Rye F3/R3*, *RIS*) та 18 "для "1B хромосоми пшениці (*XTaglgap*, *Xgwm 18*, *Xwmc798*, *Xwmc619*, *Xwmc406*, *Zy o e53*. " *Xwmc128*, *Xwmc419*, *Xgwm273*, *Xbarc137*, *Xgdm136*, *Xgwm11*, *Xgdm36*, *Zy o e848*. *Xwmc694*, "*Gli-A1*, *Gli-B1*, *GliD1*). "Разом "з молекулярно-генетичними " / ми, також використали аналіз запасних білків (гліадинів та глютенінів).

Визначено молекулярно-генетичний поліморфізм в різних за походженням 1RS.1BL транслокаціях і 1R заміщеній хромосомі жита в лініях пшениці H242/97-2, CWXs, H273/97, PavonMA1 та сорти Salmon. Лінія CWXs містить рекомбінантну 1RS, що має сегменти 1RS від H242/97-2 (Аврора=Petcus) та від H273/97 (жито "Вороне " ) Лінія Salmon виявилась гетерогенною. Як результат використання мутантної лінії CSph1b у схрещуванні з лінією E125-03 (що має 1RS.1BL) були отримані транслокаційні і рекомбінантні лінії різного типу. Визначено 15 ліній без транслокацій та рекомбінацій за 1RS.1BS; 11 ліній пшениці з інтактною 1RS.1BL транслокацією; 3 лінії з 1RS перенесеною на 1A хромосому; 2 лінії з 1RS перенесеною на 1D хромосому пшениці; 4 лінії пшениці з рекомбінантними 1RS та 1BS хромосомами; 2 лінії з рекомбінацією між гомеологічними хромосомами пшениці 1BS та 1DS; 26 гетерогенних інтрогресивних ліній BC1F8.

UDC 575.577.595

**Bilokon S. V.,  
Alieksieieva T. G.**

Odesa I. I. Mechnikov National University, 65082, Odesa, Dvoryanska str. 2

## **THE EFFECT OF MELANIN ON VIABILITY INDICATORS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER***

One of the current directions in modern pharmacy is the search for novel sources of biologically active substances that have high biocompatibility and are not toxic

to humans and animals. The natural pigments – melanins are corresponds to these requirements. The melanins are high molecular weight polymers of irregular structure belonging to the class of condensed phenolic compounds. The melanins of plant, fungal and animal origin are known and used [1]. The main manifestation of the melanins is to form the color of living objects. Experimental studies on the nature of melanins and the characteristics of their metabolism have revealed the polyfunctionality of these compounds. Now there are cases of successful use of melanin in medicine and pharmacology, due to its participation in DNA repair, as well as in the modulation of such important systems of cellular metabolism as photo- and radio-protection [2].

*Drosophila melanogaster* is a convenient object for elucidating the biological activity of various substances and preparations. The wild-type Canton-S line of *Drosophila* was used in the experiments. The viability indicators of *Drosophila* after a single addition of melanin to the nutrient medium were studied. Melanin was added to the fly food mixture at the rate of 2 ml of 3% melanin per 25 ml of the food mixture (final concentration of melanin in the mixture was 0.24%). Melanin was isolated from *Nadsoniella nigra*, a yeast-like fungus characterized by the formation of black or brown colonies. The melanin solution was kindly provided by prof. T. O. Philipova and prof. B. M. Galkin, (Department of Microbiology, Virology and Biotechnology, Odesa I.I.Mechnikov National University).

The individual components of flies viability (fertility and lifespan under standard conditions and under conditions of adding melanin to the feed mixture and the level of postembryonic loss) were studied. The functioning of the genetic apparatus was assessed by the state of polytene chromosomes in the cell nuclei of the salivary glands of third instar larvae [3].

The lifespan of wild-type C-S flies in the control was about 18 days; in the experiment (a single addition of melanin to the feed mixture of flies), the indicators tended to increase, but did not differ significantly from the control. The indicators of fertility by the number of pupae and adults and the rate of postembryonic death of flies were also investigated. Melanin, added to the feed mixture, increased the fertility of C-S flies almost 2.5 times from the control value.

Dominant lethal mutations (DLM) were counted not at the egg stage, but at the pupal stage [4]. The level of postembryonic death in the control was 41.2%, and the frequency of DLM was 20.1% in the experimental variant with melanin. The state of the genetic apparatus of salivary gland cells was assessed by their passage through endocycles, leading to polytenization of chromosomes. Receiving melanin with food had a positive effect on salivary glands cells' chromosome polytenization, which manifested itself in a significantly greater number of cells that underwent eight polytenization cycles in comparison to the corresponding control indicators. Nevertheless, the established stimulating effect of fungal melanin must be considered insignificant, since the indices of average chromosome polytenia (which are considered as a characteristic of the gene dose in the cell nucleus) [3, 5] in control



and experiment did not have significant differences

**Conclusions.** The biological activity of melanins has been proven in terms of an increase in the fertility of flies and a decrease in the number of dominant lethal mutations by estimation of postembryonic losses. The absence of melanin influence on the average chromosome polyteny indicator was found.

#### References

1. Проценко О.В. Оцінка токсичності та генотоксичності меланіну на тест-системі *Drosophila melanogaster* / О. В. Проценко, О. А. Дудка, І. А. Козерецька, Т. М. Фалалєєва, Т. В. Берегова, Л. І. Остапченко // Фактори екс. евол. організмів. – 2016. – Т. 18. – С. 137-139.
2. Таширєв А. Б. Скринінг дріжджів-продуцентів меланіну з наземних антарктичних біотопів / А. Б. Таширєв // Мікробіологічний журнал. – 2010. – Т. 72, № 1. – С. 3-8.
3. Страшнюк В. Ю. Цитоморфометрическое исследование поличенных хромосом *Drosophila melanogaster* в связи с эффектом гетерозиса, отбором по адаптивно важным признакам и полом / В. Ю. Страшнюк, С. Н. Непейвода, В. Г. Шахбазов // Генетика. – 1995. – Т. 31, № 1. – С. 24-29.
4. Скоробагатько Д. О. Індекси добору у нащадків *Drosophila melanogaster* Meig. після гострого опромінювання / Д. О. Скоробагатько, В. Ю. Страшнюк, О. О. Мазілов // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2019. – Т. 25. – С. 5-91.
5. Пат. 137874 Україна, G01N 33/554 (2006.01) на корисну модель. Спосіб визначення токсичної дії хімічної речовини / Страшнюк В. Ю., Тагліна О. В., Білоконь С.В., Алексєєва Т. Г.; заявл. 15.04.2019; опубл. 11.11.2019, Бюл. № 21. – 4 с.

УДК: 577.2: 633.34

**Zharikova<sup>1</sup> D. O.,  
Chebotar<sup>1</sup> G. O.,  
Temchenko<sup>2</sup> I. V.,  
Aksyonova<sup>3</sup> E. A.,  
Chebotar<sup>1</sup> S.V.**

<sup>1</sup>Odesa I.I. Mechnikov National University, 872: 4. F xqt {cpunc"ut0"4.

Qf guc."Witckpg="g/o ckn"u00ej gdqxtB onu.edu.ua

<sup>2</sup>Institute of Feeds and Agriculture of Podillia of NAAS, 21000, Yunosti Ave,16, Vinnitsa, Ukraine;

<sup>3</sup>Institute of Genetics and Cytology, 220072, Akademicheskaya st., 27, Minsk, Belarus

#### **POLYMORPHISMS OF MICROSATELLITE LOCI, ASSOCIATED WITH PHOTOPERIOD SENSITIVE *E* GENES, IN UKRAINIAN SOYBEAN VARIETIES AND BREEDING LINES**

The series of *E* genes (early maturity) control the plant's response to the changes in day length and, at the same time, are linked to a number of other agronomically important QTLs that affect ripening time, duration of the growing season, weight of 1000 kernels, yield, etc. According to Monlar et al. [3] and Rosenzweig et al. [4] it

is possible to detect the polymorphisms associated with *E* genes with microsatellite markers in soybean accessions.

The aim of our study was to test microsatellite markers as a useful tool for detection of alleles of *E1-E4* and *E7* genes among number of Ukrainian soybean (*Glycine Max L. Merrill*) cultivars, 19 breeding lines and 10 mutant lines.

As material were used: cultivars Kobza, Mavka, Geba, Poltava, Romashka, Halyna, Zolotysta, Krynysia, Femida, Podilska 416, Podiaka, Oksana; control varieties - isoline Harosoy OT 89-5, Vilana, Maple Arrow, Cormoran AC and Ros; 19 lines ( $F_{8-10}$ ) from crossing: Oksana x Labrador (5 lines), Mapple Belle x Sreska72 (7 lines), Line 103 x Korada (7 lines); 10 mutant lines: Oksana M2, Oksana M12, Oksana M13, Zolotysta M16, Zolotysta M20, Femida M29, Femida M32, Podilska 416 M33, Podilska 416 M38, Podilska 416 M40. PCR with microsatellite markers - *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365* and *Sat\_038*, were done as recommended by Monlar et al. [3] and Rosenzweig et al. [4].

According to the results of microsatellite analysis and data of genotyping-by-sequencing approach [2] we suggested genotypes with recessive alleles of *E* genes (*e1 e2 e3 e4 e7* alleles - Kobza, Krynysia), the dominant *E3* allele occurs in Podiaka, Halyna, Zolotysta, Podilska 416, and the presence of dominant *E7* occurs in Mavka, Podiaka, Romashka, Oksana, Femida, Podil's'ka 416. Due to the discrepancy of microsatellite analysis and data of Miladinovich et al., [2] we assume that microsatellite *Satt229* is not the perfect tool for *E3* gene detection.

Among the 10 mutant lines there were revealed, that genotypes - carriers of the dominant *E7* allele had a longer growing season (10-11 days longer) than carriers of recessive *e7* in the conditions of Ukraine. Lines with alleles 167 b.p. at the *Satt100* locus and 175 b.p. at the locus *Satt319* (which had been used for detection of the dominant allele *E7*), had shown significantly longer growing season and their maturation occurred later than others. We didn't detect a dominant *E2* with the help of microsatellite *Sat\_038*, in investigated material, except for the control variety Ros. Due to the inconsistency of our results and report of Abugalieva et al. [1], which analyzed varieties Halina, Poltava, Podiaka with allele-specific markers, we conclude that *Satt354*, as well as *Satt229*, is not the optimal diagnostic markers for determining *E3* and *E4* alleles.

We have shown a lack of correspondence between the results of microsatellite analysis with markers linked to *E* genes and the ranking of soybean varieties by maturity groups defined in the State Register of Plant Varieties Suitable for Dissemination in Ukraine 2019. There was no clear relationship between presence of alleles of *E* genes in the genotypes of the studied varieties and the ratio to a specific maturity group.

At the same time the use of MS loci *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365*, *Sat\_038* allows to differentiate soybean varieties. So, we can recommend this panel of 6 MS loci for differentiation of modern Ukrainian soybean varieties and lines and for creation genetic passports of varieties [5].

## References

1. Abugalieva, S. Assessment of soybean flowering and seed maturation time in different latitude regions of Kazakhstan / S. Abugalieva, S. Didorenko, S. Anuarbek, L. Volkova, Y. Gerasimova, I. Sidorik, Y. Turuspekov // PLoS One. – 2016. – Vol. 11(12). – P. 1-12. doi: 10.1371/journal.pone.0166894
2. Miladinović, J., Allelic variation and distribution of the major maturity genes in different soybean collections / J. Miladinović, M. Čeran, V. Đorđević, S. Balešević-Tubić, K. Petrović, V. Đukić, D. Miladinović // Frontiers in Plant Science. – 2018. – Vol. 9. – P. 1-8. doi.org/10.3389/fpls.2018.01286
3. Molnar, S. Simple sequence repeat (SSR) markers linked to *E1*, *E3*, *E4*, and *E7* maturity genes in soybean / S. Molnar, S. Rai, M. Charette, E. Cober // Genome. – 2003. – Vol. 46 (6). – P. 1024-1036. doi:10.1139/g03-079
4. Rosenzweig, V. Prospects of exploiting of photoperiod sensitivity gene *E7* in early soybean breeding and revealing of its sources with SSR-markers / V. Rosenzweig, E. Aksyonova, S. Milash, D. Goloenko, O. Davydenko // Soybean Genetics Newsletter. – 2008. – Vol. 35. – P. 1-7. [https://www.soybase.org/sgn/articleFiles/61\\_Rosenzweig081712%20-%2012-22-08%20-%20PDF%20-%20FINAL.pdf](https://www.soybase.org/sgn/articleFiles/61_Rosenzweig081712%20-%2012-22-08%20-%20PDF%20-%20FINAL.pdf)
5. Zharikova D. O., Usage of microsatellite loci linked with *E* genes, for identification and certification of soybean varieties / D. O. Zharikova, E. A. Aksoynova, G. O. Chebotar, S. V. Chebotar // Factors in experimental evolution of organisms. – 2019. – Vol. 24. – P. 80-86. doi: <https://doi.org/10.7124/FEEO.v24.1083>