

ПОСТОВОЙТОВА А. С.✉, ПРКО Я. В., БЛЮМ Я. Б.

Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України,

Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а

✉ [nastya.postovoytova@gmail.com](mailto:nastya.postovoytova@gmail.com)

## ПОЛІМОРФІЗМ ДОВЖИНИ І-ГО ТА ІІІ-ГО ІНТРОНІВ ГЕНІВ АКТИНУ ЯК ІНСТРУМЕНТ ДЛЯ ДНК-ПРОФІЛЮВАННЯ ЛЬОНУ-ДОВГУНЦЯ

**Мета.** Метою роботи була оцінка можливості використання поліморфізму довжини І-го та ІІІ-го інтронів генів актину для генотипування рослин на прикладі різних сортів льону-довгунця. **Методи.** Проаналізовано 16 сортів льону-довгунця української селекції. Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили з використанням власноруч розроблених видоспецифічних праймерів до І-го та ІІІ-го інтронів генів актину льону. Продукти реакції розділяли за допомогою електрофорезу в 6 %-ному поліакриламідному гелі з подальшою візуалізацією шляхом забарвлення нітратом срібла. **Результати.** У результаті оцінки поліморфізму довжини І-го та ІІІ-го інтронів генів актину отримано видоспецифічні ДНК профілі 16-ти сортів льону-довгунця, які містили цільові амплікони інтронів. За І-м інтроном генів актину виявлено 7 алельних фенотипів (PIC=0,62), а за ІІІ-м інтроном – 3 алельні фенотипи (PIC=0,32). Вищий рівень поліморфізму у вибірці сортів льону-довгунця виявлено під час дослідження поліморфізму довжини І-го інтрону генів актину. **Висновки.** Оцінка поліморфізму І-го та ІІІ-го інтронів генів актину дозволяє генотипувати та отримувати ДНК-профілі сортів льону-довгунця, що демонструє доцільність подальшого використання обох підходів для молекулярно-генетичного аналізу рослин.

**Ключові слова:** інтрони генів, поліморфізм довжини, гени актину, льон-довгунець (*Linum usitatissimum* L.).

На сьогодні оцінка поліморфізму довжини інтронів генів (Intron Length Polymorphism, ILP) стає все більш вживаним інструментом у сучасних популяційно-генетичних та селекційних дослідженнях [1]. Універсальність ILP-маркерів дозволяє успішно використовувати їх для генотипування, диференціації та вивчення генетичної різноманітності рослин на різних таксономічних рівнях. Виявлення поліморфізму довжини інтронів генів рослин передбачає підбір ПЛР-

праймерів, які в процесі ампліфікації будуть відпалюватися на ділянках екзонів, що кодують білкові продукти та, як наслідок, характеризуються значною консервативністю [1, 2]. ILP-маркери є кодомінантними, високо відтворюваними, нейтральними та стабільними маркерами, що дозволяють швидко отримувати легко інтерпретовані результати у вигляді специфічних ДНК-профілів досліджуваних видів [1, 2]. На сьогодні опубліковані дані, які підтверджують високу ефективність таких ДНК-маркерних систем у порівнянні з широко розповсюдженими SSR-маркерами [3–6].

На сьогодні вже розроблені та впроваджені ILP-маркерні системи, які базуються на оцінці поліморфізму довжини інтронів генів ключових цитоскелетних білків, які є високонсервативними. Зокрема, найбільшої популярності набув запропонований Д. Брев'яріо та співавт. метод оцінки поліморфізму довжини інтронів генів  $\beta$ -тубуліну рослин (Tubulin-Based Polymorphism, TBP) [7]. TBP-маркери апробовано на різних видах рослин, серед яких представники родів *Rosa* L., *Brassica* L., *Lotus* L., *Eleusine* Gaertn., *Coffea* L. [8], пшениця, ячмінь [9], льон [5] тощо. Окрім цього, опубліковані дані щодо створення та впровадження нових ILP-маркерів, які дозволяють оцінити поліморфізм довжини інтронів генів інших видів тубуліну –  $\alpha$ - та  $\gamma$ -тубуліни [10, 11].

Нещодавно для розробки нової перспективної ILP-маркерної системи було обрано гени іншого високонсервативного цитоскелетного білка – актину (основного білка мікрофіламентів). Для цього було використано оцінку поліморфізму довжини ІІ-го інтрону гена актину, що вже вдало застосовано у ході молекулярно-генетичного аналізу льону-довгунця, томату та картоплі [6, 12, 13] тощо. Зважаючи на це, метою нашої роботи була оцінка можливості використання поліморфізму довжини І-го та ІІІ-го інтронів генів актину для ДНК-профілювання та

генотипування рослин на прикладі сортів льону-довгунця (*Linum usitatissimum* L.).

### Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження слугували 16 сортів льону-довгунця української селекції, люб'язно наданих Інститутом луб'яних культур НААН України, а саме такі сорти: Есмань, Сіверський, Глухівський ювілейний, Глобус, Глазур, Гладіатор, Чарівний, Глінум, Зоря 87, Каменярь, Міандр, Журавка, Надія, Рушничок, Іванівський та Вручий. Для оцінки поліморфізму довжини I-го та III-го інтронів генів актину льону-довгунця здійснено дизайн та синтез 2 пар вироджених видоспецифічних праймерів:

Act\_Lus\_1in\_F: CAG CCM CTN GTY TGY GAC AAT GG;

Act\_Lus\_1in\_R: CCA TNC CRA CCA TYA CRC CRG TGT;

та

Act\_Lus\_3in\_F: ATT GCW GAY MGD ATG AGC AAR GA;

Act\_Lus\_3in\_R: AAG CAC TTC CTG TGR ACR ATB GA.

Ампліфікацію фрагментів ДНК проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на ампліфікаторі Thermal Cycler 2720 («Applied Biosystems», США). Реакційна суміш об'ємом 10 мкл містила п'ятикратний ПЛР буфер із сульфатом амонію, 2,5 ммоль MgCl<sub>2</sub>, 50 нг рослинної ДНК, 1 мкМ кожного з праймерів, 0,2 ммоль кожного дНТФ, 0,5 од. Таq полімерази («Fermentas», Литва). Для виявлення поліморфізму довжини I-го та III-го інтронів генів актину використали такий протокол ампліфікації: початкова денатурація (95°C) – 3 хв, 40 циклів ампліфікації (денатурація 95°C – 45 с, відпал праймерів 67°C (для пари Act\_Lus\_1in) та 62°C (для пари Act\_Lus\_3in) – 45 с, подовження 72°C – 1 хв), кінцеве подовження 72°C – 7 хвилин, 15°C – утримання.

Подальше розділення ПЛР-продуктів здійснювали за допомогою електрофорезу в 6 %-ному неденатуруючому поліакриламідному гелі в 1X TBE-буфері. Візуалізацію фрагментів проводили за допомогою забарвлення нітратом срібла [14]. Зображення аналізували в програмі GelAnalyzer (<http://www.gelanalyzer.com/>). ДНК-профілі, отримані за використання ДНК-маркерів, які базуються на оцінці поліморфізму довжини інтронів генів актину, обраховували для кожної

пари праймерів, беручи до уваги лише чіткі та відтворені фрагменти, та визначали значення PIC (Polymorphism Information Content) за формулою:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

де  $p_i$  – частота  $i$ -го алейного фенотипу у вибірці,  $n$  – загальна кількість різних алейних фенотипів у вибірці.

Варто зазначити, що під час розрахунку PIC замість частот алелів використовували показник частоти алейних фенотипів. Це пов'язано зі складністю визначення частот алелів під час обрахунку фрагментів, які утворюються в результаті використання маркерної системи, заснованої на оцінці поліморфізму довжини інтронів генів актину.

### Результати та обговорення

У попередній роботі нами опубліковані дані щодо біоінформаційного пошуку генів актину, закодованих у геномі льону-довгунця [15]. Результати оцінки особливостей екзон-інтронної структури 15-ти відібраних генів актину льону свідчать про те, що більшість їх мають 4 консервативні ділянки – екзони та 3 гіперваріабельні – інтрони. Загалом отримані дані дозволили розробити ефективну ДНК маркерну систему, що дає можливість оцінювати поліморфізм довжини II-го інтронів генів актину та яка на сьогодні успішно апробована для дослідження різних генотипів льону-довгунця на між- та внутрішньосортовому рівнях [6, 13].

На сучасному етапі роботи, використовуючи послідовності відомих генів актину льону-довгунця, ми розробили вироджені праймери для оцінки поліморфізму I-го та III-го інтронів генів актину льону. Результати аналізу поліморфізму довжини I-го інтронів генів актину у різних сортів льону-довгунця представлені на рис. 1. На електрофореграмі продемонстровані ДНК-профілі, що містять амплікони I-го інтронів генів актину, які утворилися під час ампліфікації з використанням створених авторами видоспецифічних ПЛР-праймерів Act\_Lus\_1in. Фрагменти інтронів актину візуалізували в широкому діапазоні довжин – від 228 п. н. до 1200 п. н. Загалом на рис. 1 можна ідентифікувати чотири різні зони ампліконів, серед яких у трьох виявлено поліморфізм I-го інтронів генів актину. В зоні 1, розташованій найнижче, візуалізувалося по три чіткі фрагменти інтронів для кожного

проаналізованого зразка льону-довгунця. Сорт Глазур (рис. 1, зразок 6) містив унікальний амплікон довжиною близько 210 п. н. (позначений стрілкою), в той час як усі інші зразки льону мали фрагмент I-го інтрону довжиною 230 п. н. Середня смуга ампліконів у зоні 1 виявилася мономорфною, представленою фрагментом довжиною 238 п. н., а верхня смуга має два фрагменти інтронів актину з довжинами 243 п. н. та 241 п. н.

У зоні 2 візуалізувалося по два фрагменти інтронів генів актину для кожного сорту льону-довгунця. Поліморфізм спостерігався лише в нижній смузі фрагментів, яка містить амплікони з довжинами близько 460 п. н. (сорт Вручий), 465 п. н. та 469 п. н. (сорт Глобус та Зоря 87). Для кожного зразка характерна наявність двох

фрагментів у зоні 3 (в діапазоні довжин від 754 до 898 п. н), серед яких виявлений поліморфізм. Більшість сортів льону мали амплікони з інтронами генів актину довжиною приблизно 770 п. н., а сорти Рушничок, Вручий, Сіверський та Чарівний (рис. 1, зразки 4, 7, 12, 14) мали фрагменти довжиною 754 п. н., що вирізняє їх серед інших сортів. У верхній смузі, в діапазоні від 800 до 900 п. н., також виявлено два амплікони довжиною близько 880 п. н. (у більшості сортів льону-довгунця) та 898 п. н. (для сортів Рушничок, Сіверський та Чарівний (рис. 1, зразки 4, 12, 14)). У зоні 4, розташованій у верхній частині електрофореграми, містяться два мономорфні фрагменти інтронів генів актину в діапазоні довжин від 1000 до 1200 п. н.

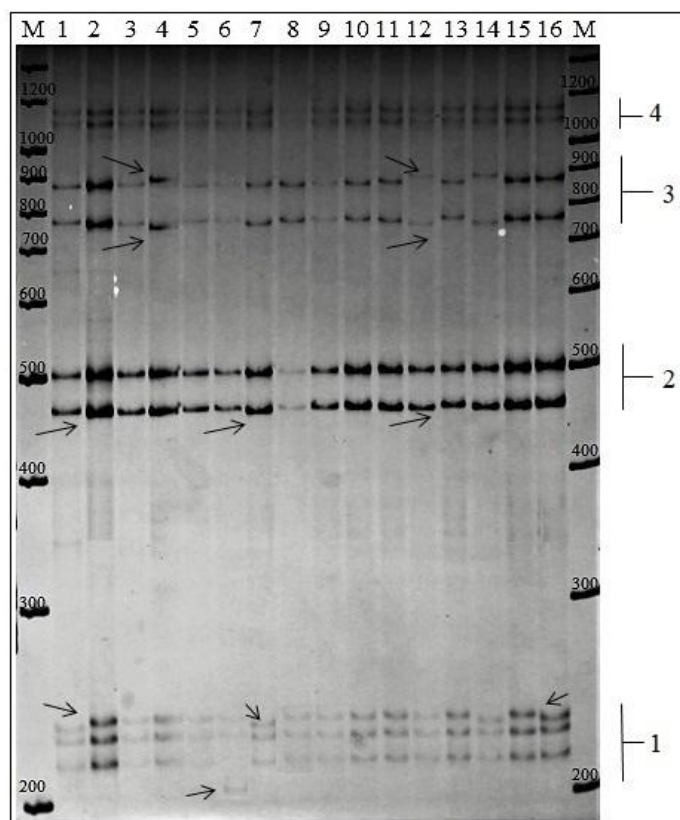


Рис. 1. Електрофореграма з ампліконами I-го інтрону генів актину в досліджуваних сортах льону-довгунця. 1 – Глобус, 2 – Надія, 3 – Гладіатор, 4 – Рушничок, 5 – Міандр, 6 – Глазур, 7 – Вручий, 8 – Іванівський, 9 – Глухівський ювілейний, 10 – Журавка, 11 – Каменярь, 12 – Сіверський, 13 – Зоря 87, 14 – Чарівний, 15 – Есмань, 16 – Глінум. М – маркер молекулярної маси O'GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas). 1–4 – зони розподілу ампліконів (з правого боку рисунка). Стрілками позначені унікальні амплікони з I-им інтроном генів актину.

Таким чином, за результатами оцінки отриманих ДНК-профілів усіх 16-ти сортів льону-довгунця української селекції, що містять фрагменти інтронів генів актину, виявлено сім різних алельних фенотипів. Унікальні алельні фенотипи мають сорти льону Глобус, Вручий, Зоря 87, Чарівний та Глілум. Значення РС дорівнює 0,65. Загалом оцінка поліморфізму довжини I-го інтронів генів актину дозволила охарактеризувати досліджувану вибірку сортів льону за цим молекулярно-генетичним маркером як високополіморфну.

Результати аналізу поліморфізму довжини III-го інтронів генів актину у різних сортів льону-довгунця представлені на рис. 2. Вони свідчать про можливість отримання специфічних ДНК-профілів кожного сорту льону-довгунця, які містять амплікони з інтронами генів актину. Утворені фрагменти візуалізувалися в широкому діапазоні від 280 п. н. до 1200 п. н. Загалом на електрофореграмі наявні чотири зони з ампліконами інтронів генів актину, серед яких у двох зонах спостерігається наявність поліморфізму.

Перша зона ампліконів має довжину фрагментів 280–350 п. н. Кожен проаналізований сорт льону-довгунця в цій зоні містить по 4 фрагменти з інтронами генів актину. Окрім того, сорти Журавка та Сіверський (рис. 2, зона 1, зразки 10, 12) мають унікальні «додаткові» амплікони довжиною приблизно 340 п. н. (на рис. 2 позначені стрілками), які вирізняють ДНК-профілі цих сортів льону-довгунця серед інших. Зона ампліконів 2 містить два фрагменти, які виявилися ідентичними у всіх досліджених сортів льону-довгунця. В діапазоні від 400 до 505 п. н. шість ідентичних для всіх зразків фрагментів з інтронами генів актину формують зону ампліконів 3. В зонах 2 та 3 поліморфізму довжини інтронів виявлено не було. В зоні ампліконів 4, яка знаходиться у верхній частині рис. 2, візуалізується приблизно по вісім фрагментів з інтронами генів актину довжиною від 695 до 1100 п. н. У сорту льону-довгунця Глухівський ювілейний (рис. 2, зразок 9) виявлений унікальний амплікон довжиною приблизно 981 п. н., що вирізняє цей сорт серед інших.

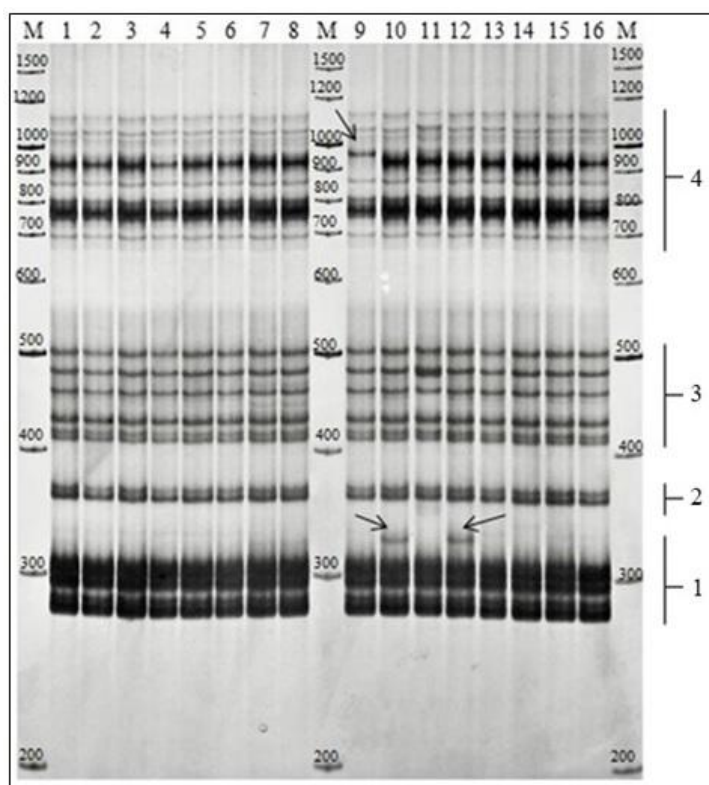


Рис. 2. Електрофореграма з ампліконами III-го інтронів генів актину в досліджуваних сортах льону-довгунця: 1 – Глобус, 2 – Надія, 3 – Гладіатор, 4 – Рушничок, 5 – Міандр, 6 – Глазур, 7 – Вручий, 8 – Іванівський, 9 – Глухівський ювілейний, 10 – Журавка, 11 – Каменярь, 12 – Сіверський, 13 – Зоря 87, 14 – Чарівний, 15 – Есмань, 16 – Глілум. М – маркер молекулярної маси O'GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas). 1–4 – зони розподілу ампліконів (з правого боку рисунка). Стрілками позначені унікальні амплікони III-го інтронів генів актину.

Загалом проведене генотипування 16-ти сортів льону-довгунця української селекції з використанням маркерної системи, яка базується на оцінці поліморфізму довжини III-го інтрону генів актину, дозволило виявити три різні алельні фенотипи. Унікальний алельний фенотип має сорт Глухівський ювілейний (рис. 2, зразок 9). У сортів Журавка та Сіверський (рис. 2, зразки 10, 12) визначено однакові алельні фенотипи, що вирізняє ці сорти серед усіх інших. ДНК-профілі 13-ти сортів льону-довгунця виявилися ідентичними та мали однаковий алельний фенотип. Надалі встановлено, що значення РС для сортів льону-довгунця за цим видом маркерів становить 0,32, що характеризує проаналізовану вибірку сортів льону-довгунця як низькополіморфну.

Загалом у результаті проведеної роботи вперше вдалося оцінити поліморфізм довжини I-го та III-го інтронів генів актину у різних сортів льону-довгунця. Видоспецифічні ДНК-маркери дозволили отримати чіткі та відтворювані ДНК-профілі для кожного сорту. Оцінка поліморфізму довжини I-го інтрону генів актину дозволила виявити сім різних алельних фенотипів у 16-ти проаналізованих сортів льону. Продемонстровано високий рівень поліморфізму (РС=0,65) за цим ДНК-маркером. Водночас встановлено три алельні фенотипи за ДНК-маркерами, що враховують поліморфізм довжини III-го інтрону генів актину, а рівень поліморфізму за цим маркером охарактеризований як невисокий. Загалом кожен з інтронів дозволив отримати специфічні ДНК-профілі сортів льону-довгунця української селекції.

## References

1. Wang X., Zhao X., Zhu J., Wu W. Genome-wide investigation of intron length polymorphisms and their potential as molecular markers in rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res.* 2005. Vol. 12. P. 417–427. doi: 10.1093/dnares/dsi019.
2. Braglia L., Manca A., Mastromauro F., Breviario D. cTBP: A successful intron length polymorphism (ILP)-based genotyping method targeted to well defined experimental needs. *Diversity.* 2010. Vol. 2. P. 572–585. doi: <https://doi.org/10.3390/d2040572>.
3. Huang L., Cao H., Yang L., Yu Y., Wang Y. Large-scale development of PIP and SSR markers and their complementary applied in *Nicotiana*. *Russ. J. Genet.* 2013. Vol. 49. P. 827–838.
4. Xia X., Luan L.L., Qin G., Yu L.F., Wang Z.W., Dong W.C., Song Y., Qiao Y., Zhang X.S., Sang Y.L., Yang L. Genome-wide analysis of SSR and ILP markers in trees: diversity profiling, alternate distribution, and applications in duplication. *Sci. Rept.* 2017. Vol. 7 (1). P. 1–10. doi: 10.1038/s41598-017-17203-6.
5. Rabokon A.N., Pirkó Ya.V., Demkovych A.Ye., Blume Ya.B. Comparative analysis of the efficiency of intron-length polymorphism of  $\beta$ -tubulin genes and microsatellite loci for flax varieties genotyping. *Cytol. Genet.* 2018. Vol. 52 (1). P. 3–15.
6. Postovoytova A.S., Yotka O.Yu., Pirkó Ya.V., Blume Ya.B. Molecular genetic evaluation of Ukrainian flax cultivars homogeneity based on intron length polymorphism of actin genes and microsatellite loci. *Cytol. Genet.* 2018. Vol. 52 (6). P. 448–460.
7. Bardini M., Lee D., Donini P., Mariani A., Giani S., Toschi M., Lowe C., Breviario D. Tubulin-based polymorphism (TBP): a new tool, based on functionally relevant sequences, to assess genetic diversity in plant species. *Genome.* 2004. Vol. 47 (2). P. 281–291. doi: 10.1139/g03-132.
8. Breviario D., Baird W.V., Sangoi S., Hilu K. High polymorphism and resolution in targeted fingerprinting with combined  $\beta$ -tubulin introns. *Mol. Breed.* 2007. Vol. 20. P. 249–259.

Порівнюючи результати аналізу поліморфізму довжини I-го та III-го інтронів генів актину з раніше опублікованими даними щодо оцінки поліморфізму довжини II-го інтрону [13] у різних сортів льону-довгунця, доцільно зазначити безперечну інформативність усіх трьох підходів та можливість використання їх в подальших генетичних дослідженнях як окремо, так і разом.

## Висновки

На підставі результатів аналізу поліморфізму довжин I-го та III-го інтронів генів актину вивчено генетичне різноманіття сортів льону-довгунця української селекції, отримано специфічні ДНК-профілі для кожного сорту. Встановлено, що більш високий рівень поліморфізму у вибірці досліджених сортів виявлено під час оцінки поліморфізму довжини I-го інтрону генів актину. Продемонстрована інформативність та доцільність подальшого використання поліморфізму I-го та III-го інтронів генів актину для аналізу різних генотипів льону та його близьких родичів.

*Робота виконана в рамках проекту «Створення молекулярно-генетичних маркерів для диференціації різних генотипів рослин на основі вивчення поліморфізму інтронів генів їх цитоскелетних білків» цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Молекулярні та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства» на 2015–2019 рр.*

*Щиро вдячні Інституту луб'яних культур НААН України (м. Глухів) за надані сорти льону-довгунця української селекції.*

9. Rabokon A.N., Pirko Ya.V., Demkovych A.Ye., Blume Ya.B. Studing of  $\nu$ -tubulin gene intron length polymorphizm of *Triticum aestivum* L. and *Hordeum vulgare* L. varieties. *Factors of experimental evolution of organisms*. 2015. Vol. 17. P. 82–86 [in Ukrainian] / Рабокoнь А.М., Демкович А.Є., Пірко Я.В., Блюм Я.Б. Дослідження поліморфізму довжини інтронів генів  $\beta$ -тубуліну у сортів *Triticum aestivum* L. та *Hordeum vulgare* L. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2015. Т. 17. С. 82–86.
10. Pirko Ya.V., Postovoitova A.S., Rabokon A.M., Kalafat L.O., Privalikhin S.M., Bilonozhko Yu.O., Pirko N.M., Blume Ya.B. Study of intron length polymorphism of the  $\alpha$ -tubulin genes as a method of analysis of the genetic differentiation in plants. *Ukr. Bot. J.* 2018. Vol. 75 (6). P. 576–584. [in Ukrainian] / Пірко Я.В., Постовойтова А.С., Рабокoнь А.М., Калафат Л.О., Приваліхін С.М., Білоножко Ю.О., Пірко Н.М., Блюм Я.Б. Вивчення поліморфізму довжини інтронів генів  $\alpha$ -тубуліну як метод аналізу генетичної диференціації рослин. *Укр. бот. журн.* 2018. Т. 75 (6). С. 576–584. doi: 10.15407/ukrbotj75.06.576.
11. Pirko Ya.V., Buy D.D., Postovoitova A.S., Rabokon A.M., Kalafat L.O., Blume Ya.B. New ILP method based on  $\gamma$ -tubulin genes intron length polymorphism. *Dopov. Nac. akad. nauk Ukr.* 2018. № 12. P. 87–92. [in Ukrainian] / Пірко Я.В., Буй Д.Д., Постовойтова А.С., Рабокoнь А.М., Калафат Л.О., Блюм Я.Б. Поліморфізм довжини інтронів генів  $\gamma$ -тубуліну як новий підхід до генотипування рослин. *Доп. НАН України*. 2018. № 12. С. 87–92. doi: 10.15407/dopovidi2018.12.087.
12. Postovoitova A. S., Pirko Ya.V., Blume Ya.B. Polymorphism of actin gene introns as an instrument for genotyping of the representatives from *Solanaceae* family. *Science Bulletin of NUBiP. Biological systems: theory and innovation*. [S.l.]. № 287. P. 70–78. [in Ukrainian] / Постовойтова А.С., Пірко Я.В., Блюм Я.Б. Поліморфізм інтронів генів актину як інструмент генотипування представників родини *Solanaceae*. *Наук. Вісник НУБіП. Біологічні системи: теорія та інновації*. [S. l.]. № 287. С. 70–78.
13. Postovoitova A.S., Yotka O.Yu., Pirko Ya.V., Blume Ya.B. The intron length polymorphism analysis of the actin genes in representatives of the genus *LINUM* L. *Plant Biology and Biotechnology: Third Conference for Young Scientists* (Kyiv, May 16–18 2017). Kyiv, 2017. P. 40. [in Ukrainian] / Постовойтова А.С., Йотка О.Ю., Пірко Я.В., Блюм Я.Б. Аналіз поліморфізму довжин інтронів генів актину у представників роду *LINUM* L. *Біологія рослин та біотехнологія: матеріали III конференції молодих учених*. (Київ, 16-18 травня 2017). К., 2017. С. 40.
14. Benbouza H., Jean-Marie J., Jean-Pierre B. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnol Agron Soc Environ.* 2006. Vol. 10 (2). P. 77–81.
15. Pydiura N., Pirko Ya., Galinovsky D., Postovoitova A., Yemets A., Kilchevsky A., Blume Ya. Genome-wide identification, phylogenetic classification, and exon-intron structure characterisation of the tubulin and actin genes in flax (*Linum usitatissimum*). *Cell Biol. Intl.* 2018. doi: 10.1002/cbin.11001

**POSTOVOITOVA A. S., PIRKO Ya. V., BLUME Ya. B.**

*Institute of Food Biotechnology and Genomics, Nat. Acad. of Sci. of Ukraine, Ukraine, 04123, Kyiv, Osypovskop str., 2A, e-mail: nastya.postovoytova@gmail.com*

**Ist AND IIIrd INTRON LENGTH POLYMORPHISM OF ACTIN GENES AS A TOOL FOR FLAX DNA-PROFILING**

**Aim.** The purpose of the work was to evaluate the possibility of using the polymorphism of the Ist and IIIrd introns of actin genes for DNA plant genotyping using flax varieties as model. **Methods.** 16 varieties of Ukrainian flax were analyzed. PCR was conducted using self-developed species-specific primers for the Ist and IIIrd introns of flax actin genes. DNA fragments were separated by electrophoresis in a 6% polyacrylamide gel and visualized by silver stains. **Results.** As a result of the evaluation of the Ist and IIIrd intron length polymorphism of actin genes, the species-specific DNA profiles of 16 flax varieties containing the target amplicons were obtained. The 7 allele phenotypes (PIC = 0.62) were detected for the Ist introns of the actin genes, and 3 allelic phenotypes (PIC = 0.32) for the IIIrd intron of actin genes. The highest level of polymorphism in the flax varieties was detected by evaluating the Ist intron length polymorphism of actin genes. **Conclusions.** Evaluation of the polymorphism of the Ist and IIIrd introns of actin genes allows genotyping and obtaining DNA profiles of flax varieties, which demonstrates the feasibility of further using both approaches for molecular genetic analysis of plants.

**Keywords:** gene introns, length polymorphism, actin genes, flax (*Linum usitatissimum* L.).