

ДОДАТОК

ВИБРАНІ ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ на XIX Міжнародній науковій конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів» (23–26 вересня 2024 р., м. Тернопіль, Україна)

BALATSKY V. N.¹, PEKA M. Yu.^{1,2}, SAIENKO A. M.¹, BUSLYK T. M.¹

¹ *Institute of Pig Breeding and Agroindustrial Production of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Poltava, Ukraine*

² *V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine*
e-mail: vnbalatsky@gmail.com

BIOINFORMATIC ANALYSIS FOR IDENTIFYING CAUSATIVE POLYMORPHISMS IN LIVESTOCK SPECIES GENOMES

The development of genetic markers for productive traits in farm animals mainly focuses on identifying causative polymorphisms. This task is challenging, particularly due to the quantitative nature of the inheritance of most such traits. Various approaches are used in this search, ranging from establishing the connection of individual polymorphisms with specific traits in candidate genes, identified by their functional relevance in classic association experiments, to genome-wide association studies (GWAS), which aim to identify quantitative trait loci (QTL), candidate genes, and causative nucleotides. GWAS technology, especially with the advent of next-generation sequencing techniques, has significantly advanced the search for causative mutations and the development of direct markers for productive traits in farm animals.

However, practical implementation of these studies may encounter methodological challenges. When individual QTLs contribute minimally to productivity traits, GWAS may fail to detect their influence. Additionally, an insufficient density of DNA markers may prevent distinguishing causative polymorphisms from those that are in linkage disequilibrium with the causative ones. To enhance the efficiency of GWAS, one approach is to use inbred lines, although this reduces genetic variability. Conversely, using hybrid animals allows for the inclusion of more gene variants in the experiment, but it also necessitates a significant increase in the number of experimental animals to achieve statistical validation of GWAS results. Consequently, despite the large number of sequenced genomes of farm animals and advancements in GWAS technology, only about 50 causative gene variants had been identified across all species by 2021.

Several methodological approaches have been developed to optimize the identification of causative genes and polymorphisms and accelerate research. These include the analysis of candidate gene expression, gene knockout, genetic engineering to create allelic variants, detection of allelic variant splicing, exome sequencing, and others. We propose identifying causative missense polymorphisms and developing genetic markers for productive traits using bioinformatic analysis, which allows assessing the impact of specific gene polymorphisms on the encoded proteins. This approach enables the early identification, in an *in silico* study, of those polymorphisms that are predicted to have the greatest effect on the protein's structure and function. The assessment of polymorphisms is carried out using two bioinformatic approaches: sequence-oriented, which evaluates the impact of polymorphisms on protein function by analyzing the primary amino acid sequence, and structure-oriented, which assesses protein stability by studying its tertiary structure. At this point, we have tested the effectiveness of bioinformatic analysis on a set of recognized causative polymorphisms and have also utilized this approach to develop genetic markers for biological and productive traits based on polymorphisms in the porcine telomerase reverse transcriptase gene. Further research in this area holds promise for the broader implementation of bioinformatic analysis in animal breeding practices.

БЛИЗНЮК К.Г., ШУРИПА В.О., ШЕЛИФІСТ А.Є., ВОЛКОВ Р.А.

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

ВИКОРИСТАННЯ ДІЛЯНКИ ITS1-5.8S-ITS2 ДЛЯ БАРКОДИНГУ ВИДІВ РОДУ *GALINSOGA*

Одна з актуальних проблем, вирішення яких потребують залучення молекулярних маркерів – це явище біологічної інвазії. Інвазійні рослини витісняють аборигенні види з їх природних місць зростання, що, в кінцевому рахунку, може призводити до їх повного зникнення, порушуючи рівновагу в екосистемах. Яскравим прикладом інвазії є стрімке розповсюдження в Україні *Galinsoga parviflora* Cav. та *G. quadriradiata* Ruiz & Pav. (Asteraceae). Проблема ідентифікації видів цього роду ускладнюється значною морфологічною подібністю його представників.

Нуклеотидні послідовності внутрішніх транскрибованих спейсерів ITS1 та ITS2 між ділянками, які кодують 5.8S, 18S та 25S рРНК у складі ядерної 35S рДНК відомі високою ефективністю використання для ДНК-баркодингу рослин. Водночас, у кожному окремо взятому випадку необхідно перевіряти доцільність та ефективність застосування обраної ділянки для вирішення поставленої задачі.

Нами був проведений аналіз доцільності використання нуклеотидних послідовностей ділянки ITS1-5.8S-ITS2 (або ITS1-2) при дослідженні генетичної мінливості *G. parviflora* та *G. quadriradiata*. Для вивчення на території Чернівецької області було відібрано по дві популяції кожного з цих видів. ПЛР-ампліфікати ділянки ITS1-2 для кожного зразку сиквенували методом Illumina. Для порівняльного аналізу використовували наявні у базі даних GenBank послідовності *G. quadriradiata* (GU818550), *G. parviflora* (FJ696962, KY968894, MH050163, MH050164) та, в якості зовнішньої групи, *Smalanthus maculatus* (FJ696963).

При побудові сітки філогенетичних дистанцій на основі сиквенованих нуклеотидних послідовностей ITS1-2 було виявлене наступне групування досліджуваних зразків. (1) Усі послідовності *G. parviflora* формують єдину компактну групу. (2) Ріди з геномів *G. quadriradiata* розподіляються між на п'ятьма групами, дві з яких (№ 1 та 5) локалізуються на сітці спільно із послідовностями *G. parviflora* та високоподібні із ними та між собою, тоді як послідовності у складі трьох інших груп суттєво відрізняються від них. Для кожної із виявлених груп були генеровані консенсусні послідовності, які використовували у подальшому порівняльному аналізі. Встановлено, що консенсусні послідовності ITS1-2 *G. parviflora* та груп № 1 та 5 *G. quadriradiata* ідентичні між собою, а також зі деякими зразками, наявними у базі даних GenBank. Найбільш віддалена група № 3 *G. quadriradiata* містить послідовності ITS1-2, які відрізняються від решта послідовностей *G. parviflora* численними нуклеотидними замінами в обох спейсерних ділянках. Пошук в базі даних GenBank не показав наявності ITS1-2, подібних до цього варіанту. Ймовірно, у геномі *G. parviflora* ця група послідовностей з'явилась завдяки гібридизації з неідентифікованим видом родини Asteraceae, для якого ділянка ITS1-2 ще не просиквенувана. Послідовності груп № 2 та 4 ITS1-2 із геномів *G. quadriradiata*, які займають на філогенетичній сітці проміжне положення, імовірно мають рекомбінантне походження. На загал, отримані результати підтримують уявлення про гібридне походження *G. quadriradiata*.

Отримані результати свідчать про можливість застосування послідовностей ITS1-2 для баркодингу видів роду *Galinsoga* за умови більш глибокого аналізу їх внутрішньогеномного різноманіття, що можливо за умови сиквенування ПЛР-продуктів з використанням технологій наступного покоління (NGS), зокрема – методу Illumina.

БОРИСЮК М.В.^{1,2}, СТЕПАНЕНКО А.^{1,2,3}, ЧЕН Г^{2,3}, МІХАЄЛ Т.,⁴ ЛЕМ Е.⁵, ШУБЕРТ І.³

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії, НААН України, Київ, Україна

²Школа наук про життя, Педагогічний університет Хуайінь, Хуайань, Китай

³Інститут генетики рослин і дослідження рослинництва (ІРК), Гатерслебен, Німеччина

⁴Лабораторія молекулярної та клітинної біології рослин, Інститут біологічних досліджень Солка, Ла-Хойя, США

⁵Кафедра біології та патології рослин, Ратгерс, Університет штату Нью-Джерсі, Нью-Брансвік, США

e-mail: nborisjuk@yahoo.com

НУКЛЕОТИДНИЙ РІВЕНЬ АРХІТЕКТУРИ ЛОКУСІВ рДНК РЯСКИ *SPIRODELA POLYRHIZA* ТА *SPIRODELA INTERMEDIA* (LEMNACEAE)

Ряска (Lemnaceae) – родина квіткових однодольних водних рослин, що представлена 36 видами з переважно вегетативним розмноженням та швидкими темпами накопичення біомаси. Наші дослідження геному двох найдавніших видів ряски, *Spirodela polyrhiza* (Michael et al., 2017) та *Spirodela intermedia* (Hoang et al., 2020), виявили аномальну низьку для рослин кількість повторів рибосомальної ДНК (рДНК), кодує рибосомальну РНК (рРНК), приблизно 100 копій генів 35S рРНК та 5S рРНК на геном, порівняно із тисячами копій у більшості досліджених рослин. Така мала копійність генів рРНК дозволила детально розшифрувати молекулярну організацію локусів рДНК за допомогою комбінації методів молекулярної цитології, аналізу довгих неперервних послідовностей ДНК, згенерованих з використанням методів секвенування нового покоління (PacBio, Oxford Nanopore), та стандартного секвенування ампліконів. Загальний аналіз локусів рДНК показав, що багаті GC-нуклеотидами масиви 35S рДНК і 5S рДНК вбудовані в ділянки хромосом, збагачених AT-нуклеотидами. Подальший аналіз продемонстрував, що кластери повторів 5S рДНК локалізовані у двох різних хромосомних локусах і складені відповідно із 40 і 60 одиниць повторів. 5S рДНК повтори в цих локусах мають нетранскрибовані спейсери (NTS) різного розміру та демонструють різні рівні варіабельності нуклеотидів, що свідчить про контрастну еволюційну динаміку двох типів 5S рДНК в геномі ряски (Chen et al., 2024). Представлена робота вперше для вищих рослин демонструє структуру локусів рДНК на нуклеотидному рівні. Одержані дані ставлять ряску в центр уваги досліджень рДНК, проливаючи нове світло на розуміння основних принципів організації рДНК та регуляції рибосомальних РНК, які є ключовими компонентами рибосом.

АПРОБАЦІЯ РОЗРОБЛЕНИХ ПІДХОДІВ АДАПТАЦІЇ РОСЛИН *IN VITRO* ДО УМОВ *EX VITRO* ТА *IN SITU* НА ПРИКЛАДІ *CARLINA L.*

Посилення тенденції використання у фармацевтичній та медичній практиці нових видів лікарських рослин часто призводить до виснаження їхніх запасів, скорочення ареалів видів та їх потрапляння до регіональних, державних чи міжнародних списків рідкісних таксонів. Саме до таких цінних лікарських рослин належать види роду *Gentiana L.*, які занесені до Червоної книги України (2009) і мають статус вразливих. Раніше нами запропонована технологія збереження високогірних видів цього роду із застосуванням стратегії «quasi» *in situ*, що передбачає оптимізацію умов культивування *in vitro*, враховуючи умови зростання та едафічні потреби рослин у природі. Критеріями розробленої технології є: стан фотосинтетичного апарату, особливості водного режиму, морфометричні параметри рослин із природи як критерії-маркери функціонального стану рослин під час культивування *in vitro* та адаптації їх до умов *ex vitro* та *in situ*. Врахування таких критеріїв дозволить підвищити адаптаційний потенціал посадкового матеріалу ще на етапі *in vitro* та забезпечить максимальне приживання рослин в природних умовах. Для оцінки ефективності технології важливо з'ясувати, чи розроблені підходи можуть бути універсальними і використовуватись для інших видів рослин. Тому, метою роботи було застосувати багатоступінчасту технологію адаптації високогірних рослин *in vitro* до умов *ex vitro* та *in situ* для збереження деяких видів роду Відкасики (*Carlina L.*).

Проведено первинний аналіз умов і місць зростання рідкісних видів *Carlina cirsioides* Klok., *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szaf., Kulcz. et Pawl., *Carlina acaulis* L. у природі, а також відібрано рослинний, насіннєвий матеріал та зразки ґрунту. Для оптимізації складу живильного середовища було визначено вміст сполук Фосфору, нітратної та амонійної форм Нітрогену, а також обмінну кислотність ґрунтів із локалітетів цих видів. На наступному етапі було проведено комплекс досліджень структурно-функціонального стану рослин із природи, а саме: визначено вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів у рослинах різних вікових груп, досліджено вплив кліматичних умов на вміст та співвідношення фотосинтетичних пігментів відкасоків; здійснено оцінку функціонування фотосинтетичного апарату за показниками кінетики ключових параметрів флуоресценції хлорофілу *a*, досліджено параметри водного режиму. Ці показники можуть бути використані як маркери для оцінки реакцій рослин *in vitro* на зміну фізико-хімічних умов їх культивування.

Подальша оптимізація культивування рослин в умовах асептичної культури передбачала підбір інтенсивності та спектрального складу світла, а також збалансування елементного складу живильного середовища із додаванням необхідних регуляторів росту. Для цього було проведено оцінку функціонування фотосинтетичного апарату листків відкасоків за різних варіантів світлових режимів, а також досліджено перспективи використання препарату рекультиванту композиційного «Trevitan™» для отримання та росту колекцій рослин *in vitro*. Це сприяло покращенню морфометричних параметрів рослин видів роду *Carlina* під час культивування в умовах *in vitro*. На основі підбору умов для росту в асептичній культурі планується акліматизація рослин *in vitro* до умов *ex vitro* з подальшим перенесенням отриманих біотехнологічними методами рослин в умови *in situ*.

Отже, використання технології збереження високогірних видів сприяло покращенню структурно-функціональних показників рослин роду *Carlina* в умовах *in vitro*, що дозволить цілеспрямовано впливати на механізми підвищення їхнього адаптаційного потенціалу до умов *ex vitro* та *in situ*.

ЛАБУНЕЦЬ І.Ф.^{1,2}, ТОПОРОВА О.К.^{1,3}

¹ Інститут генетичної та регенеративної медицини, Державна установа «Національний науковий центр «Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини ім. академіка М.Д. Стражеска НАМН України», Київ, Україна

² Державна установа «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», Київ, Україна

³ Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ, Україна
e-mail: irina_labunets@ukr.net

ЗМІНИ ПОВЕДІНКИ МИШЕЙ ІЗ РІЗНИМ ГЕНОТИПОМ Н-2 ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ НЕЙРОТОКСИНУ, СТОВБУРОВИХ КЛІТИН І МЕЛАТОНІНУ

Порівняти зміни моторної та немоторної поведінки у мишей із різним генотипом Н-2 після введення нейротоксину, мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин пуповини (ММСК-П) людини і гормону мелатоніну. Дорослим мишам самцям лінії FVB/N (генотип Н-2^а) і 129/Sv (генотип Н-2^б) вводили нейротоксин 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин (МФТП) у дозі 30 мг/кг (модель паркінсонізму), через 7 діб у хвостову вену – ММСК-П у дозі 500 тис. клітин, а через 24 год після трансплантації клітин – курсом мелатонін (щоденно ввечері, у дозі 1мг/кг, всього 14 ін'єкцій). Поведінку оцінювали в тестах «відкрите поле», на ригідність, ротарод тесті та у тесті вироблення умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ). *Вплив МФТП на поведінку мишей.* У мишей лінії FVB/N після введення МФТП зменшувалась кількість вертикальних стійок, зазирань «у нірки», зростали кількість болюсів і час утримання на валу, а також з'являлись ознаки порушення пам'яті у тесті УРПУ. У мишей лінії 129/Sv після введення МФТП зменшувалась кількість стійок, «зазирань у нірки» і довжина кроку, тоді як кількість болюсів зростала; ознаки порушення пам'яті були менш вираженими, ніж у мишей лінії FVB/N. За нашими даними, лінійні відмінності порушень поведінки дослідних мишей можна пояснити особливостями структурних змін нейронів в органах центральної нервової системи, а також стану антиоксидантного захисту і балансу клітин нейрозапалення в головному мозку. *Вплив ММСК-П на поведінку мишей із моделлю паркінсонізму.* У дослідних мишей обох ліній, які мали схожі прояви порушень поведінки, напрям позитивного впливу ММСК-П на останні залежав від лінії тварин (рухова і когнітивна функція у мишей лінії FVB/N і емоційна активність у мишей лінії 129/Sv). *Вплив комбінації ММСК-П і мелатоніну на поведінку мишей із моделлю паркінсонізму.* Курсове введення мелатоніну після трансплантації ММСК-П підсилює їх позитивний ефект на когнітивну функцію у мишей лінії FVB/N і емоційну активність у мишей лінії 129/Sv. Прояви моторних і немоторних порушень поведінки під дією МФТП, як і позитивний вплив ММСК-П на їх зміни, залежить від генотипу мишей за Н-2 (аналог НЛА людини). Результати можуть бути підґрунтям для прогнозування особливостей реакції ЦНС при паркінсонізмі за генетичною характеристикою індивідуума, а також розробки персоналізованої клітинної терапії цієї патології з використанням ММСК-П як самостійно, так і у поєднанні з мелатоніном.

ЛИМАНСЬКА О.Ю.¹, БАЛАК О.К.², БАЛАК С.О.³, ЛИМАНСЬКИЙ О.П.⁴

¹ Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН України, Харків, Україна,

² Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

³ Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, Харків, Україна

⁴ Інститут фізіологічно активних сполук, Харків, Україна

e-mail: olgaliman@ukr.net

ВИЗНАЧЕННЯ ПОТЕНЦІЙНИХ НЕКАНОНІЧНИХ СТРУКТУР 3WJ У ГЕНОМІ СПУМАВІРУСУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Мотив 3WJ (three-way junction) – це характерний для вторинної структури молекул нуклеїнових кислот лабільний гнучкий фрагмент, що складається з трьох з'єднаних у точці зв'язування дуплексів. Він характеризується конформаційною рухливістю, впливає на просторову орієнтацію молекули та має розгалужену структуру. 3WJs відіграють вирішальну роль у багатьох біологічних процесах, таких як сплайсинг, трансляція, рекомбінація, та можуть бути асоційованими з деякими захворюваннями людини (зокрема, дегенеративними розладами), що дозволяє розглядати їх як потенційні мішені для лікарських препаратів. 3WJs є структурами, властивими для молекул транспортних, рибосомальних РНК, рибозимів. Утворення 3WJs встановлено для матричних РНК вірусів гепатиту А та С, імунодефіциту людини. Проте інформація стосовно можливості формування цих неканонічних структур у геномі вірусів тварин на цей час є відсутньою. Мета роботи – пошук 3WJ структур (three way junctions) в геномній РНК спумавірусу великої рогатої худоби (СВ ВРХ). Для пошуку внутрішньомолекулярних 3WJ в геномній РНК СВ ВРХ використано програму Vfold2D на веб-сервері <http://rna.physics.missouri.edu>. Послідовність геномної РНК ізоляту JX307861 СВ ВРХ з повним геномом (довжина становить 12010 нуклеотидів (н.)) з бази даних GenBank розрізано на 114 фрагментів довжиною 145 н., які перекриваються на 40 н. Для підтвердження вторинної структури та визначення термодинамічних параметрів 3WJs використовували програму Mfold. Множинне вирівнювання нуклеотидних послідовностей та пошук консервативних мотивів 3WJ структур для 27 ізолятів СВ ВРХ з повним геномом з бази даних GenBank проведено в програмі MEGA. В якості контролю коректності пошуку мотивів 3WJ використовували послідовність, що утворює 3WJ в ДНК бактеріофага phi29. Три стебла цієї 3WJ, кристалічну структуру якої раніше експериментально підтверджено з роздільною здатністю 0,3 нм (Zhang H. et al. 2013), містять 20 комплементарних пар нуклеотидів (п.н.). В мРНК СВ ВРХ нами знайдено 6 потенційних структур 3WJ, які стабілізовано 20-26 комплементарними п.н. та локалізовано в генах *gag* та *env* (по 2 структури), *bel2*, а також в 5'LTR. Проте тільки дві 3WJ структури (в генах *gag* та *env*) з зазначених вище шести таких, що побудовано за допомогою програми Mfold (без примусового утворення комплементарних пар), збігаються з 3WJ структурами, які визначено за допомогою програми Vfold2D. 5 з 6 визначених 3WJ структур не є консервативними для набору з 27 ізолятів СВ ВРХ. Консервативний мотив 3WJ локалізовано в гені *gag* (у позиції 1387-1459 для ізоляту JX307861 СВ ВРХ). У мРНК спумавірусу ВРХ знайдено висококонсервативну 3WJ структуру, яка характеризується 100 %-вим рівнем подібності для 27 повногеномних ізолятів СВ ВРХ. Зазначену внутрішньомолекулярну вторинну структуру, яка локалізована в гені *gag*, утворено трьома дуплексами та стабілізовано 20 комплементарними парами нуклеотидів.

ЕВОЛЮЦІЙНІ ПАРАМЕТРИ СПУМАВІРУСУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Швидкість мутацій, як і тиск відбору, є важливим параметром для вивчення еволюції організмів. Стосовно вірусів швидкість мутацій може бути використано, наприклад, для встановлення ризиків емерджентних інфекційних захворювань, оцінювання стратегії вакцинації тощо. Найбільш високою швидкістю мутацій характеризуються РНК-віруси, у тому числі ретровіруси, одними з представників яких є спумавіруси, поширені серед різних видів тварин. Спумавірус великої рогатої худоби (СВ ВРХ, BFV) є об'єктом уваги дослідників внаслідок можливості використання як вектора при проведенні генної терапії, потенційного зоонозного потенціалу, більш складної, порівняно з відомими ретровірусами, геномної організації. Проте еволюційні характеристики СВ ВРХ до теперішнього часу не встановлено. Мета роботи – характеристика нуклеотидних геномних послідовностей ізолятів спумавірусу ВРХ з бази даних GenBank та визначення впливу природного відбору на гени за допомогою біоінформатичних методів. Для маніпулювання з нуклеотидними та амінокислотними послідовностями, мутаційного аналізу протеїнів СВ ВРХ, побудови графіків ентропії Шеннона для визначення несинонімічних та синонімічних замін, побудови матриці відмінностей послідовностей для розрахунку швидкості мутацій використано програму BioEdit, для визначення кількості стоп-кодонів – програму NuPhy. Оцінку впливу природного відбору на гени шляхом визначення dN/dS проводили з використанням методу SLAC (single likelihood ancestor counting) на сервері Datamonkey, Z-тесту в програмі MEGA, а також через визначення коефіцієнту тесту Таджими (MEGA). Проведено мутаційний аналіз повновимірних генів *gag*, *pol*, *env*, *bell*, *bel2* для 27 ізолятів спумавірусу ВРХ: з графіків ентропії Шеннона визначено несинонімічні та синонімічні заміни. Відповідно до даних, отриманих за допомогою методу SLAC, встановлено, що на ген *bel2*, який кодує протеїн Tas, діє позитивний відбір (dN/dS = 1,57), а на гени *gag*, *pol*, *env*, *bell* – очищуючий відбір (dN/dS <1). Швидкість мутацій, яку визначено для генів BFV (*gag* (0,0150 %), *pol* (0,0073 %), *env*(0,0103 %), *bell* (0,0290 %), *bell* (0,0206 %)), значно (в 8-37 разів) перевищує таку для вірусу імунодефіциту (ВІ) ВРХ. (ВІВ) (*gag* (0,0004 %), *pol* (0,0002 %), *env* (0,0013 %)). Для порівняння визначено швидкість мутацій гена ORF1ab (0,059 %), що кодує протеїн NSP3, який має високу мінливість, для 27 ізолятів коронавірусу SARS-CoV2, що розподілено на два набори (один набір складено з 14 ізолятів за 2003 рік, а другий – з 13 ізолятів за 2024 рік), швидкість мутацій всередині яких становить 0,00007 % та 0,00012 % відповідно. Встановлено кількість стоп-кодонів для генів BFV. Ген *gag* містить 1 стоп-кодон, ген *pol* – 4(5), ген *env* – 9(10), ген *bell* – 1, ген *bel2* – 7(8) для різних ізолятів. Відмітною особливістю BFV порівняно з ВІВ є надзвичайно висока кількість стоп-кодонів в генах *env*, *bel2*, *pol*, що перевищує таку для генів *env* та *pol* іншого ретровірусу – ВІ ВРХ – у 4-9 разів. Швидкість мутацій генів BFV перевищує таку для генів *env* та *pol* ВІ ВРХ. в 8-37 разів.

ЛЮБИНСЬКИЙ О.І.

Кам'янець-Подільський національний університет імені Івана Огієнка, Кам'янець-Подільський, Україна

e-mail: lubin.alex@gmail.com

ЕКОСИСТЕМНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ

Проблема збереження вітчизняного генетичного ресурсу біорізноманіття стала надзвичайно актуальною та важливою в контексті національної безпеки держави.

Збереження та невиснажливе використання біорізноманіття, як національного багатства України, визнано одним з пріоритетів державної політики в сфері природокористування, екологічної безпеки та охорони довкілля, невід'ємною умовою поліпшення його стану та екологічно збалансованого соціально-економічного розвитку.

Збереження біорізноманіття необхідне для нормального функціонування екосистем – лісів, водойм, лук, боліт, степів. Подальше скорочення біорізноманіття може викликати дестабілізацію біоти, втрати цілісності біосфери та її здатності підтримувати найважливіші характеристики середовища, біосфера може стати непридатною для життя людини.

При проведенні оцінки впливу на довкілля, яка призначена для виявлення характеру, інтенсивності і ступеня небезпеки впливу будь-якого виду планованої господарської діяльності на стан довкілля і здоров'я населення, дослідження біорізноманіття включає такі етапи: визначення об'єкту дослідження (різноманітні екосистеми, види рослин та тварин, або біорегіони); оцінка потенційного впливу діяльності на біорізноманіття (аналіз літератури, експертна оцінка та збір інформації про вплив подібних проектів на природні ресурси в минулому); розробка плану дослідження (методи та протоколи для збору даних про біорізноманіття); збір даних (дані про стан біорізноманіття в обраному об'єкті дослідження за допомогою польових досліджень, зразків, моніторингу та інших методів); аналіз даних (аналіз та оцінка вплив планованої діяльності на біорізноманіття); підготовка звіту та рекомендацій з невиснажливого використання та впливу на біоресурси.

Для проведення дослідження біорізноманіття використовують такі методи: інвентаризація видів (збір та ідентифікацію всіх видів, які можна знайти на певній території); моніторинг (постійне спостереження за біорізноманіттям на певній території); генетичний аналіз (аналіз генетичної різноманітності різних видів щодо оцінки вразливості видів до змін в середовищі); картографування екосистем (створення карт, які показують розташування різних екосистем та видів, які мешкають на певній території).

Збереження та охорона біорізноманіття України забезпечується на різних рівнях. Першим рівнем є *in situ* – тобто в природних умовах, другий рівень – *ex situ*, передбачає підтримку рідкісних представників біорізноманіття за межами їхніх природних умов поширення. Третій рівень – *in vitro*, в склі, тепер частіше культури вирощують у пластмасових посудинах. Четвертим рівнем збереження біорізноманіття є генетична паспортизація біоти, включаючи і людину, як одного із її представників. Біоінформаційний метод картографування геному надає можливість не тільки ідентифікації біоти за геномом, але й відтворення в разі втрати виду на трьох попередніх рівнях.

Отже, проблема збереження і сталого використання біорізноманіття важлива та актуальна у аспекті глобальних природних катаклізмів, тому необхідно посилити дослідження щодо ризиків зниження генетичного потенціалу різних екосистем, приймати ефективні рішення про ведення тої чи іншої господарської діяльності, постійно оцінювати вплив на довкілля, зокрема навантаження на біорізноманіття.

MIDLOVETS K. K.¹, VOLKOVA N. Ye.¹, PEKA M. Yu.^{1,2}

¹ V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

² Institute of Pig Breeding and Agroindustrial Production of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Poltava, Ukraine

e-mail: midlovetskon@gmail.com

IN SILICO ANALYSIS OF THE STABILITY OF WNT/FZD COMPLEXES

WNT signaling is a critical process both prenatally and postnatally. Its importance for the molecular physiology of tissues is underscored by its involvement in the proliferation, migration, and differentiation of stem cells. In humans, 19 different WNT proteins are known, encoded by a corresponding gene family. Additionally, 10 Frizzled (FZD) proteins, encoded by their corresponding gene family, serve as natural WNT receptors, facilitating signal transmission into the cell. Currently, data on gene expression in these two families and the interaction of individual WNT/FZD pairs have been obtained through both instrumental and *in silico* methods. However, a definitive map of WNTs' interactions with FZDs is far from being finalized. Therefore, the aim of this study was to identify preferential binding pairs based on the prediction of the most stable WNT/FZD complexes.

This study was conducted *in silico* and involved methods of phylogenetic analysis, bioinformatics, and systems biology. Specifically, the pairwise degrees of identity of amino acid sequences of proteins within the WNT and FZD families were evaluated, and the phylogenetic relationships between the corresponding paralogs were analyzed. The degree of amino acid sequence identity ranged from 28.3% to 84.2% among proteins in the WNT family and from 25.6% to 77.5% in the FZD family.

In the next step of the research, databases of protein-protein interactions were analyzed to identify WNT/FZD pairs capable of physical ligand-receptor interactions. For each WNT/FZD pair with a possible interaction, the corresponding structure of three-dimensional complex was constructed using homology modeling approach. A total of 110 such models were generated. To evaluate the stability of WNT interactions with FZD, the binding free energy (ΔG) was calculated for each complex. All the obtained ΔG values were of a negative sign, indicating that these complexes can form without requiring additional energy input. The results indicated significantly higher absolute values of ΔG for complexes involving FZD5 or FZD8 as receptors, suggesting greater stability in their interactions with various WNTs. Thus, binding of WNT family proteins is more likely to occur with FZD5 or FZD8 receptors.

The search for tissue specificity in gene expression of both families and the assessment of the stability of WNT/FZD complexes in the context of tissue specificity are currently relevant areas for further investigation in WNT signaling studies. The obtained ΔG values can be utilized to predict the formation of WNT/FZD complexes, thereby aiding in the planning of *in vivo* or *in vitro* experiments.

PEKA M. Yu.^{1,2}, BALATSKY V. N.²

¹ V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

² Institute of Pig Breeding and Agroindustrial Production of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Poltava, Ukraine

e-mail: pekapoltava@gmail.com

CHANGES IN THE RECEPTOR AFFINITY OF PORCINE CORONAVIRUSES INFLUENCED BY MUTATIONS IN THE SPIKE PROTEIN

The COVID-19 pandemic, caused by the SARS-CoV-2, and its socioeconomic consequences have prompted a new wave of research into various coronavirus species. The currently known human coronaviruses, including SARS-CoV-2, are often considered to be of zoonotic origin. For this reason, we studied two porcine coronaviruses, *Transmissible gastroenteritis virus* (TGEV) and *Porcine respiratory coronavirus* (PRCV), to assess the potential risks to humans posed by their evolution. Both TGEV and PRCV belong to the *Alphacoronavirus* 1 species, along with other viruses that infect cats and dogs. These viruses use a surface spike glycoprotein (S-protein) to enter cells, with aminopeptidase N (APN, ANPEP) serving as their natural receptor.

To compare the ability of TGEV and PRCV to infect pigs and humans, we performed *in silico* modeling of complexes including receptor-binding domains (RBD) of the S-proteins of 10 TGEV and 6 PRCV strains bound to pig and human APN receptors. The stability of these complexes was estimated by calculating the binding free energy (ΔG) using the MM/GBSA method. No statistically significant difference in the ability to bind APN receptors was found between the TGEV and PRCV strains. However, the RBDs of the studied viruses exhibited a statistically higher affinity for the pig receptor compared to the human receptor, reflecting their biological adaptation. The highest affinity for both pig and human receptors was demonstrated by the TGEV 133 strain.

To assess the risks posed by the further evolution of this group of viruses, theoretically possible mutations were introduced into the RBD of the TGEV 133 strain, and changes in ΔG of the RBD-APN complexes were evaluated. Theoretically possible mutations refer to those resulting from a single nucleotide change in the corresponding codon, leading to an amino acid substitution in the RBD. It was found that the mutations P547T, T551I, and T551K could increase the affinity of TGEV 133 for both pig and human receptors. Additionally, the double mutations P547T and T551I/K exhibited a synergistic effect on the stability of the RBD-APN complexes.

Thus, using *in silico* methods, we demonstrated that although TGEV and PRCV strains, which traditionally infect pigs, have a higher affinity for the APN receptors of their natural hosts, mutations leading to changes in several amino acids in the RBDs of their spike proteins could potentially increase affinity for human APN. Continued monitoring is important to prevent the risks of interspecies transmission of these porcine coronaviruses.

RASHAL I., GRAUDA D.

University of Latvia, Riga, Latvia

e-mail: izaks.rasals@lu.lv

**GENETIC DIVERSITY OF NATURAL PLANT POPULATIONS: STRUCTURE AND
INFLUENCING FACTORS**

In the presentation will be given overview of investigations on genetic diversity of natural plant populations conducted in the Laboratory of Ecological Genetics of the Institute of Biology, University of Latvia. Specify of different populations, including those of white clover (*Trifolium repens*), lady slipper orchids (*Cypripedium calceolus*), cloudberry (*Rubus chamaemorus*), sand pink (*Dianthus arenarius*), were recognised. Factors influenced particularities of genetic structure of populations will be analysed.

SAIENKO A. M.¹, PEKA M. Yu.^{1,2}, BALATSKY V. N.¹, TSERENIUK O. M.¹

¹ *Institute of Pig Breeding and Agroindustrial Production of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Poltava, Ukraine*

² *V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine*

e-mail: saenko_artem@meta.ua

***TERT* GENE POLYMORPHISM IN THE CONTEXT OF EVOLUTION AND PHYLOGENETIC ANALYSIS**

Telomerase reverse transcriptase (*TERT*) plays a crucial role in telomere length maintenance, a fundamental process for eukaryotic organisms. This enzyme is an RNA-dependent DNA polymerase and is believed to have originated in the early evolution of eukaryotes. *TERT* is found across a wide range of taxonomic groups, including animals, plants, and fungi. As of this writing, 723 *TERT*-like proteins have been identified in the NCBI database within eukaryotic organisms, of which 617 *TERT* orthologs found among vertebrates. This represents a significant increase from the numbers reported in 2023, which were 648 and 539, respectively. However, these data likely underestimate the true prevalence of *TERT* among biological species, as many species lack comprehensive sequencing data, and thus the corresponding nucleotide and amino acid sequences of *TERT* have not been determined. Previously, we conducted a phylogenetic analysis based on the coding sequences of *TERT* in 36 vertebrate species, revealing clustering patterns consistent with taxonomic groupings. This demonstrates the potential of *TERT* for use in phylogenetic analysis at the interspecific level.

Evidence suggests the presence of conserved regions within the structure of the *TERT* enzyme. Nonetheless, the level of polymorphism in the *TERT* gene, both at the intraspecific and interspecific levels, requires more detailed investigation. For example, our analysis of Ensembl database indicates that the coding part of the human *TERT* gene (4039 bp), harbors 1631 known polymorphisms with varying frequencies across populations, of which 937 are missense variants. In contrast, the cow *TERT* gene contains 540 polymorphisms (380 missense variants), and the pig *TERT* gene contains 54 polymorphisms (23 missense variants). Given that humans, cows, and pigs are all mammals, these differences in polymorphism levels may reflect the varying extents to which these species have been studied using molecular genetic methods.

To explore the potential of the *TERT* gene for analyzing evolution at the intraspecific level, we examined the coding sequences of *TERT* in 12 pig breeds whose genomes are available in databases. Our phylogenetic analysis enabled us to differentiate pig breeds. One cluster on the phylogenetic tree comprised breeds of European and American origin, such as Landrace, Large White, Duroc, Berkshire, Pietrain, and USMARC. Another cluster included Asian breeds, such as Bamei, Meishan, Rongchang, and Tibetan. Two other breeds of different origins, Hampshire and Jinhua, did not fit into these clusters and formed a separate branch on the phylogenetic tree.

Given its widespread presence among eukaryotic species, the *TERT* shows promise as a phylogenetic marker gene that could enhance our understanding of biological adaptation, evolutionary relationships, and the differentiation of cryptic species, supplementing insights gained from nuclear and mitochondrial genes. However, further research is needed to fully understand *TERT* polymorphism and to explore the use of its variable and conserved regions in studying evolutionary processes.

МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ РІДКОЗЕМЕЛЬНИХ МЕТАЛІВ ІЗ МІКРООРГАНІЗМАМИ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

Рідкоземельні метали (РЗМ) відіграють ключову роль у високотехнологічних галузях промисловості завдяки широкому застосуванню в екологічних, космічних і оборонних технологіях. Проте, видобуток і очищення РЗМ є проблемним через політичні, технологічні та екологічні труднощі, що створюють монополію та дефіцит цих елементів на світових ринках. Тому пошук нових джерел і розробка нових технологій видобутку РЗМ, зокрема, методів на основі використання мікроорганізмів, викликають значний науковий та комерційний інтерес. Мікроорганізми можуть взаємодіяти з різними важкими металами, включаючи рідкоземельні елементи через численні метаболічні шляхи. Ці взаємодії можуть бути використані для вилучення РЗМ з різних джерел і мінералів. Різні частини бактерій можуть мати різну здатність зв'язувати РЗМ, що може бути цінним для їх концентрування та очищення від інших елементів. Ключем до вирішення технологічних труднощів із видобутком РЗЕ є розуміння механізмів їх взаємодії з мікроорганізмами, пошуком ефективних штамів та метаболічних шляхів, а також розробка промислових продуцентів на їх основі (Syrvatka et. al., Trends in Biotechnology, 2022). Незважаючи на значний науковий та комерційний інтерес, інформації щодо впливу РЗМ на мікроорганізми є вкрай мало, що в більшій мірі, пов'язано із потребою в софістичних приладах для їхнього дослідження. Тому розробка нових методів та підходів для вивчення РЗМ-бактеріальних взаємодій є актуальною та своєчасною.

Метою даного дослідження була розробка стратегії вивчення взаємодії рідкоземельних елементів із мікроорганізмами з використанням сучасних генетичних, біоінформатичних, біохімічних та хімічних методів досліджень. Робота виконувалась на базі кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка. Першим етапом роботи було вивчення впливу РЗМ на ґрунтові бактерії різних родів, зокрема, *Promicromonospora sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Micromonospora sp.*, *Kribbella sp.*, *Amycolatopsis sp.*, *Umezawaea sp.*, *Streptomyces sp.*, та інших. Встановлено різний вплив РЗМ на досліджувані мікроорганізми, зокрема, на продукцію ними вторинних метаболітів. Більше того, виявлено специфічний вплив окремих РЗЕ, зокрема скандію (Sc), що не був характерним для інших елементів. Було розроблено експрес-метод для вивчення взаємодії бактерій із РЗМ через продукцію сидерофор для високопродуктивного скринінгу перспективних штамів, що здатні взаємодіяти із цими металами. Отриманий метод дозволяє помітити взаємодії бактеріальних метаболітів з Gd, Y, Ce, Sc та La. Водночас, розроблений та адаптований експрес метод визначення концентрації цих елементів в біологічних зразках, що не потребує використання спеціалізованого аналітичного обладнання. В біологічних зразках межі виявлення досліджуваних РЗЕ, з використанням розробленого методу, становили 1-100 мкМ. Для пошуку метаболітів, що здатні взаємодіяти із РЗМ було використано ряд біоінформатичних інструментів, зокрема AntiSMASH, що дозволяють ідентифікувати наявність генів біосинтезу вторинних метаболіт в геномах мікроорганізмів. Також нами розроблено модельну систему, для проведення експериментів із взаємодією мікроорганізмів з РЗМ у складі мінералів.

Вивчення РЗМ-бактеріальних взаємодій з використанням розроблених та адаптованих методів дало можливість знайти перспективні штами для вивчення таких взаємодій.

FISH АНАЛІЗ ПОВТОРЮВАНИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ДНК У *SECALE CEREALE*, *IRIS PUMILA* ТА *IRIS PSEUDOPUMILA*

Число хромосом та структурні зміни каріотипу, що супроводжують гібридизацію і поліплоїдизацію, відіграють вирішальну роль у процесі еволюції рослин. Аналіз каріотипу вже давно використовують як джерело базової геномної інформації. Поява молекулярної цитогенетики, зокрема методу FISH, дає змогу провести глибше дослідження каріотипів. Однак, проведення такого аналізу у багатьох видів рослин ускладнюється відсутністю інформативних послідовностей хромосомних маркерів. Найчастіше для FISH в якості зондів використовують гени рДНК, що дозволяє зрозуміти структуру каріотипу, а також встановити міжвидові еволюційні зв'язки.

Відомо, що локуси 45S рДНК розташовані в зоні ядерцевого організатора, тоді як тандемні повтори 5S рДНК знаходяться на інших ділянках хромосом. Довжина, локалізація та інтенсивність сигналу є важливими характеристиками, які можуть допомогти в ідентифікації хромосом.

Інші тандемно повторювані послідовності, наприклад, сателітну ДНК, широко використовують для розв'язання багатьох питань систематики, філогенії та еволюції. Послідовності рSc200 та рSc250 є некодуючими повторами, які становлять близько 5 % геному *Secale cereale* ($2n=2x=14$). Нами виявлено міжсортовий поліморфізм локалізації цих послідовностей у жита, з геному якого отримані і є житоспецифічними. У більшості сортів повтор рSc200 розташований на кінцях обох плечей усіх хромосом. У рослин сорту Життедайне показано відсутність рSc200 на довгому плечі хромосоми 5R. У сорту Imperial сигнал рSc200 знайдено на всіх плечах семи пар хромосом, окрім довгого плеча хромосоми 4R. Сателітний повтор рSc250 наявний на хромосомах 1R та 3R у всіх досліджених сортах. Між Selgo, Imperial та Petkus показано відмінності у розподілі сигналу послідовності рSc250. За допомогою FISH встановлено, що в усіх досліджених сортах *S. cereale* 45S рДНК локалізована на короткому плечі хромосоми 1R, тоді як 5S рДНК – на коротких плечах трьох хромосом (1R, 3R, 5R). Знайдені також значні відмінності в копійності повторів 5S та 45S рДНК у жита.

Нами проведено також цитогенетичні дослідження двох видів півників. Встановлено, що *Iris pseudopumila* є диплоїдом з числом хромосом $2n=16$, тоді як *Iris pumila* є тетраплоїдом з диплоїдним набором $2n=4x=32$. Наразі достеменно невідомо походження *I. pumila*. Нами висунуто припущення про амфідиплоїдну природу цього виду, каріотип якого міг утворитися внаслідок комбінації хромосомних наборів гіпотетичних предкових форм *I. pseudopumila* та *I. attica*. Для кращого розуміння походження цих видів і їх взаємозв'язку нами вперше проведено FISH із використанням в якості зонда 45S рДНК. Виявлено, що *I. pumila* має 10 мажорних сигналів 45S рДНК на хромосомах, тоді як *I. pseudopumila* – 4. Також спостерігалися мінорні сигнали цього повтору як на метафазних хромосомах, так і на інтерфазних ядрах обох видів.

Таким чином, нами показано поліморфізм хромосомної локалізації сателітних послідовностей рSc200 та рSc250 у різних сортів жита. Вперше методом FISH виявлено розташування локусів 45S рДНК на хромосомах *I. pumila* та *I. pseudopumila*. Для кращого розуміння походження цих видів необхідний детальніший молекулярно-цитогенетичний аналіз із використанням й інших зондів.

**ВНУТРІШНЬОГЕНОМНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ДІЛЯНКИ ITS1-5.8S-ITS2
ТА ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ ДЛЯ ДНК-БАРКОДИНГУ ІНВАЗІЙНИХ ВИДІВ
РОДУ *REYNOUTRIA* HOUTT.**

Ділянка ITS1-5.8S-ITS2 (ITS1-2) 35S рДНК широко використовується для молекулярного баркодингу та у філогенетиці рослин. Вважається, що завдяки концертній еволюції всі копії 35S рДНК у геномах еукаріот ефективно гомогенізуються. Проте, останнім часом показано існування внутрішньогеномного поліморфізму ділянки ITS1-2 в геномах рослин, що може бути наслідком внутрішньо- або міжвидової гібридизації. Міжвидова гібридизація відіграє важливу роль при видоутворенні у рослин. Зокрема, це явище є однією з причин, яка визначає успіх інвазійних видів. Показано, що схрещування адвентивних видів рослин з представниками місцевої флори (або різних адвентивних видів між собою) може призводити до появи агресивних гібридних форм, які демонструють гетерозис та краще пристосовані до умов довкілля. Прикладом інвазійних видів, для яких характерна міжвидова гібридизація, є *Reynoutria japonica* Houtt. та *R. sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai, два види зі Східної Азії, природний ареал яких перекривається на території Японії та Сахаліну.

У цій роботі ми ампліфікували ділянку ITS1-2 методом ПЛР для зразків *R. japonica* та *R. sachalinensis* з території України та Румунії. Амплікони було сиквененовано методом Illumina для оцінки внутрішньогеномного поліморфізму цієї ділянки. Отримані рідні після тримінгу за якістю було використано для обрахунку сітки генетичних дистанцій за алгоритмом Neighbor-Net, використовуючи програму SplitsTree5. Для встановлення філогенетичного положення проаналізованих в роботі зразків методом maximum likelihood (ML) побудували філогенетичну дендрограму з використанням послідовностей ITS1-2, доступних в базі даних GenBank.

На отриманій сітці генетичних дистанцій наявні два основні кластери, J та S. Ці кластери репрезентують два основні класи послідовностей ITS1-2, які присутні в геномах *R. japonica* та *R. sachalinensis*. Обидва кластери можна розділити на чотири підкластери. Рівень подібності між консенсусними послідовностями ITS1-2 підкластерів знаходиться в межах від 94,6 % між J4 та S1 до 99,3 % між J1 та J2. Аналіз кластеризації рідів на сітці показав, що у всіх досліджуваних зразків обох видів *Reynoutria* послідовності ITS1-2 представлені кількома мажорними (більше 5 %) та мінорними варіантами, що свідчить про їх неповну гомогенізацію в геномі. Кількість мажорних варіантів коливається від двох у *R. japonica* до шести у *R. sachalinensis*. Варіанти ITS1-2, які широко представлені у геномі одного виду, можуть бути присутні у малій кількості у іншого виду, що вказує на імовірну міжвидову гібридизацію.

На ML-дендрограмі послідовності роду *Reynoutria* утворюють монофілетичну групу з високою статистичною підтримкою, яка розпадається на дві великі клади, перша з яких об'єднує виключно послідовності *R. sachalinensis*, зокрема і S1-S4 консенсусні послідовності з українських зразків. Водночас, друга велика клада розділяється на чотири основні субклади. Два варіанти ITS1-2, J1 і J2, на які в сумі припадає 80 та 59 % повторів у геномах двох зразків *R. japonica*, локалізуються на дендрограмі в межах однієї субклади разом із послідовностями *R. japonica* var. *japonica*. Таким чином, зразки *R. japonica* з України та Румунії представляють найбільш агресивно інвазійну варіацію цього виду *R. japonica* var. *japonica*. Проте, нами було показано наявність в їхніх геномах також інших варіантів ITS1-2, характерних, зокрема для *R. forbesii* та навіть для *R. sachalinensis*, що може свідчити про важливий внесок гібридизації у формування досліджених форм рослин роду *Reynoutria*.

Отже, аналіз внутрішньогеномного поліморфізму ITS1-2 є необхідним при проведенні баркодингу, реконструкції філогенезу таксонів низького рівня та для ідентифікації гібридних форм.

**ТІСТЕЧОК С.І.¹, СИРВАТКА В.Я.¹, РОМАН І.І.¹, РЕБЕЦЬ Ю.В.², ЛУЖЕЦЬКИЙ А.М.³,
ГРОМИКО О.М.¹, ФЕДОРЕНКО В.О.¹**

¹ Львівський національний університет імені І. Франка, Львів, Україна

² ТзОВ Експлоджен, Львів, Україна

³ Саарландський університет, кафедра фармацевтичної біотехнології, Саарбрюккен, Німеччина
e-mail: Stepan.Tistechok@lnu.edu.ua

МОДЕЛЬ БІОСИНТЕЗУ НОВОГО АНТИМІКОТИЧНОГО АНТИБІОТИКА Je478

Поширення антибіотикорезистентності серед патогенних мікроорганізмів призвело до поширення інфекційних захворювань, які не піддаються лікуванню жодними із існуючих препаратів. Пошук нових антибіотиків становить одне із найважливіших завдань сучасної біотехнології. Серед природних антибіотиків абсолютна більшість походять із вторинного метаболізму мікроорганізмів, зокрема грибів (46 %) та ґрунтових бактерій (51 %). З відкриттям стрептоміцину та тетрацикліну, актиноміцети стали основним джерелом біологічно активних сполук, зокрема антибіотиків. У екстрактах штаму актиноміцетів *Streptomyces* sp. Je 1-332 було виявлено новий метаболіт, який продемонстрував активність проти ряду бактерійних тест-культур, в тому числі проти *Mycobacterium tuberculosis*. Je478 є циклічним тритерпеном (С30) із незвичним типом циклізації. З огляду на це метою даної роботи було ідентифікувати мінімальний набір генів необхідних для синтезу та встановити модель біосинтезу антибіотика Je478.

Для визначення мінімального набору генів, необхідних для біосинтезу Je478, проведено серію експериментів з делеції генів з обох країв фрагменту хромосоми, гетерологічна експресія якого призвела до продукції Je478. У результаті встановлено, що мінімальний набір генів Je478 складається з 12 відкритих рамок зчитування. Щоб визначити роль кожного гена в біосинтезі Je478, ідентифіковані гени були видалені окремо. Отримані мутанти із делеціями переносили в штаму *S. albus* Dell14 шляхом кон'югації та перевіряли на здатність продукувати Je478 використовуючи ВЕРХ-МС. Враховуючи отримані результати, запропоновано наступну схему біосинтезу Je478. На першому етапі два фарнезилдифосфати об'єднуються з утворенням дифарнезилдифосфату (ДФДФ) зі зв'язком С1-С4' між двома фарнезиловими залишками, що каталізується продуктом гена *groD*. Далі гуанідинова частина, яка надходить безпосередньо з аргініну, приєднується до утвореного ДФДФ з утворенням лінійного гексапренілгуанідину. Отриманий лінійний попередник циклізується утворюючи проміжне похідне Je478 з масою 480,44 Да, який далі модифікується шляхом додавання кетогрупи в положенні С7, за що відповідає продукт гена *groI*, в результаті чого утворюється похідне Je478 з масою 494,44 Да. На останньому етапі кетогрупа модифікується в гідроксигрупу (*groE*) з утворенням сполуки з масою 496,43 Да, яка під час очищення деградує до Je478.

Отже, ідентифіковано мінімальний набір генів необхідний для біосинтезу антибіотика Je478, виявлено структурні та регуляторні гени. Крім того, здійснено низку делецій, які привели до розуміння моделі біосинтезу нового антимікотичного антибіотика Je478. Це, в свою чергу, дозволить отримати покращені штами продуценти антибіотика Je478 та його похідних для вивчення фармакологічних та цитотоксичних властивостей цього антибіотика.

Дана робота була підтримана Національним фондом досліджень України (<https://nrfu.org.ua>) в рамках проекту № 2021.01/0263 «Біотехнологічний та фармакологічний потенціал нового антимікобактерійного антибіотика Je478».

ЧВАЛЮК Г. В., ГРУБІНКО В. В.

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка,

Тернопіль, Україна

e-mail: 0986372888g@gmail.com

ВПЛИВ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ СЕРЕДОВИЩА КУЛЬТИВУВАННЯ НА ГЕНЕТИЧНІ МОДИФІКАЦІЇ КЛІТИН ВОДОРОСТІ *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER.

Інтерес до потенційних комерційних сполук із мікрowodоростей обумовлений необхідністю з'ясування механізмів підвищення їхньої стресостійкості, збільшення продуктивності, інтенсифікації обміну речовин і спрямування метаболізму для активації тих чи інших біосинтетичних процесів та отримання корисних речовин (Richmond, Hu, 2013). Поряд із біохімічними методами регуляції активно застосовуються генетичні методи трансформації метаболізму, які полягають у вивченні геному водоростей, експресії відповідних генів та утворенні нових генетично модифікованих штамів (Alzahrani, 2013; Shrestha et al., 2013).

Відомо, що водорості містять значну кількість груп активних органічних компонентів різної хімічної будови із різними властивостями. Метали та неметали, потрапляючи у клітину, проявляють високу біохімічну дію, модифікуючи метаболічні реакції, у т. ч. пов'язані з функціонуванням генетичного апарату клітин мікрowodоростей.

У роботі А.М. Alzahrani (2013) показано, що поряд із фізіологічними та біохімічними змінами за адаптації культури *C. vulgaris* до підвищених концентрацій Купруму відбуваються зміни генетичних характеристик культури. Відмінності, визначені за допомогою ISSR-ПЛП (метод молекулярно-генетичного аналізу на основі полімеразної ланцюгової реакції ПЛП), між культурою диких водоростей та дібраною за стійкістю до Купруму культурою перевищували 60 %.

Метою нашої роботи було визначити рівень генетичних змін культури за дії використаних мікроелементів, а також встановити їхні оптимальні концентрації. Це дозволить більш ефективно проводити добір стійких до потенційно токсичних хімічних елементів штамів водоростей (Alzahrani, 2013; Kebeish et al., 2014).

Додаткове внесення мікроелементів у середовище культивування обумовлює певні модифікації генетичного апарату клітин водорості. Водночас виявлені зміни у водоростей, вирощених на середовищах із вмістом різних мікроелементів та їхніх поєднань, знаходяться в межах рівня генетичного поліморфізму одноклітинних зелених водоростей за природних умов росту, що свідчить про відсутність суттєвого генотоксичного впливу мікроелементів і високу метаболічну та генетичну пластичність культури водоростей.

Пригнічення росту водорості спостерігали лише при підвищенні концентрації Se у середовищі понад 100 мг/дм³.

Сполуки селену можуть також здійснювати модуляції метилювання ДНК або гальмування деацетилювання гістонових протеїнів (Ferguson et al., 2012). Відмічено також додаткову протекторну функцію селену щодо генетичного апарату клітин через селенметіонін-індуковану реакцію репарації ДНК і зростання активності репаративних ензимів – ДНК-глікозилаз (передусім p53, BRCA1 та Gadd45), які відновлюють пошкоджені ділянки ДНК (Fischer et al., 2006; Vera et al., 2013).

Встановлено, що культивування *C. vulgaris* у присутності селену, цинку або хрому супроводжується змінами генетичних характеристик культури водоростей. Ми припустили, що ці зміни можна пояснити мутагенним впливом згаданих елементів у використаних концентраціях.

ЧЕРНІК І.В.¹, ПИДА С.В.¹, МАЦЮК О.Б.¹, ТРИГУБА О.В.²

¹ Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Тернопіль, Україна

² Кременецька обласна гуманітарно-педагогічна академія ім. Тараса Шевченка, Кременець, Україна
e-mail: igor77cheri@gmail.com, spyda@ukr.net, boratun1@ukr.net

ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У ЛИСТКАХ *CICER ARIETINUM* L. ЗА ВПЛИВУ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ

Основою росту та продуктивності рослин є фотосинтез, тому дослідження факторів впливу на формування та функціонування фотосинтетичного апарату є актуальними. На інтенсивність фотосинтетичних процесів у рослинах суттєво впливає вміст пластидних пігментів. Хлорофіли та каротиноїди беруть участь у формуванні структури фотосинтетичного апарату і виконують важливу роль у фотохімічних реакціях, пов'язаних з поглинанням сонячної енергії та утворенням органічних речовин, необхідних для росту та розвитку рослин (Шадчина, 2006). На утворення та функціонування фотосинтетичного апарату впливає мінеральне живлення рослин. Ефективним способом поліпшення азотного живлення бобових культур є використання мікробних препаратів на основі бульбочкових бактерій.

У зв'язку із зміною клімату нут звичайний (*Cicer arietinum* L.) є однією із перспективних культур для Західного Лісостепу України, оскільки характеризується високою жаро- та посухостійкістю.

Метою роботи було дослідити вплив *Mesorhizobium ciceri* штаму ND-64 та комплексного мікробного препарату Ризогумін на вміст пластидних пігментів у листках *C. arietinum* сортів Скарб та Ярина у ґрунтово-кліматичних умовах Західного Лісостепу України.

Дослідження проводили упродовж 2021-2023 років на важко-суглинистому чорноземі типовому агробіологічної лабораторії Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка у трьох варіантах та чотирьох повтореннях. Насіння нуту звичайного контрольного варіанту (К) перед сівбою зволожували водою з водогону з розрахунку 2 % від маси, а дослідних – рідкими формами бактеріальної суспензії штаму *Mesorhizobium ciceri* ND-64 (БС) та Ризогуміну згідно з нормами виробника. Упродовж вегетації визначали вміст хлорофілів *a*, *b* і каротиноїдів у свіжозібраних листках нуту звичайного за Вельбурном (Wellburn, 1994). Встановлено, що мікробні препарати суттєво впливали на біосинтез хлорофілу *a*. Його вміст у мезофілі листків *C. arietinum* сортів Скарб та Ярина за впливу *M. ciceri* ND-64 упродовж генеративних фаз росту і розвитку статистично вірогідно збільшувався на 18,6 (цвітіння) – 10,6 (початок досягання бобів) (К: 1,13±0,011 – 1,41±0,062 мг/г сирої маси) та 7,8 (цвітіння) – 15,2 (зелений біб) % (К: 1,41±0,045 – 1,58±0,053). БС ефективніше впливала на накопичення пігментів у листках нуту звичайного порівняно з Ризогуміном. Співвідношення між кількістю хлорофілів *a* і *b* за передпосівної обробки насіння мікробними препаратами статистично вірогідно зростає за рахунок підвищення вмісту хлорофілу *a* у листках рослин. Мікробні препарати суттєво не впливали на вміст основних каротиноїдів у листках. Накопичення пластидних пігментів у мезофілі листків залежить від сортових особливостей рослин та фази онтогенезу. Листки нуту звичайного сорту Скарб характеризуються вищою кількістю суми хлорофілів порівняно з аналогічними показниками сорту Ярина.

Використання мікробних препаратів на основі *M. ciceri* у технології вирощування нуту звичайного є перспективним засобом, що стимулює накопичення хлорофілів у листках і опосередковано впливає на продуктивність культури.