

АНДРЕЄВ І. О.[✉], МЕЛЬНИК В. М., КУНАХ В. А.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,

Україна, 03143, м Київ, вул. Акад. Заболотного, 150, ORCID: 0000-0002-3706-8514, 0000-0002-0084-3142, 0000-0002-9418-3172

[✉] i.o.andreev@imbg.org.uaПОВНОГЕНОМНИЙ АНАЛІЗ ГЕНІВ 5S РИБОСОМНИХ РНК
GENTIANA MACROPHYLLA PALL.

Завдяки унікальній будові гени 5S рРНК використовують для вивчення еволюції геному, а також в якості молекулярного маркера. **Метою** роботи було вивчення ділянки міжгенного спейсера (МГС) генів 5S рРНК виду *Gentiana macrophylla* Pall. **Методи.** Біоінформатичний аналіз нуклеотидних послідовностей МГС 5S рДНК, знайдених пошуком у референтному геномі *G. macrophylla*. **Результати.** Встановлено, що в геномі *G. macrophylla* більшість генів 5S рРНК кількістю близько 460 копій розташовані на 7-й хромосомі у вигляді тандемних повторів. За довжиною та послідовністю ділянки МГС всі повтори можна розділити на 4 класи. Серед них 84% складають повтори, які за нуклеотидною послідовністю подібні до МГС 5S рДНК двох інших видів секції *Cruciata*. МГС рибосомних повторів всіх класів містить типові для 5S рДНК інших квіткових рослин регуляторні елементи транскрипції. Відмінності між класами обумовлені наявністю дуплікацій ділянок різної довжини, розташованих на початку МГС. Такий механізм еволюції МГС за рахунок дуплікації фрагменту, розташованого на початку спейсера, знайдений нами раніше і в інших видів тирличів. **Висновки.** Отримані дані свідчать про існування в геномі *G. macrophylla* різних варіантів повторів 5S рДНК, що може створювати підґрунтя для забезпечення генетичної пластичності.

Ключові слова: *Gentiana macrophylla* Pall., міжгенний спейсер, 5S рДНК, молекулярна організація, мінливість.

Gentiana macrophylla Pall. – типовий представник секції *Cruciata* Gaudin роду *Gentiana* (Gentianaceae). Ареал цього виду простягається від Сибіру до Центрального Китаю. Це багаторічна трав'яниста рослина, що зростає переважно в помірній кліматичній зоні [1,2]. Як

й інші тирличі, цей вид має важливе фармакологічне значення, здавна входить до китайської традиційної медицини. Його коріння містить деякі гіркі сполуки, які широко використовуються для лікування різноманітних захворювань, таких як діабет, апоплексія, параліч, ревматизм тощо [3–5]. Зважаючи на важливе значення *Gentiana macrophylla* для китайської медицини, нещодавно було проведено повногеномне секвенування і зібрано референтний геном цього виду [6].

У геномі вищих еукаріотів гени 5S рРНК зазвичай організовані у вигляді масивів тандемних повторів, кожен з яких складається з високонсервативної транскрибованої ділянки та більш мінливої спейсерної послідовності [7]. Завдяки такій унікальній організації ці гени використовують для вивчення еволюції геному, а також в якості молекулярного маркера в філогенетичних дослідженнях. Раніше нами було показано, що у представників роду *Gentiana* ділянка міжгенного спейсера (МГС) характеризується високим рівнем мінливості на міжвидовому рівні і може бути використана для з'ясування питань філогенії окремих таксонів всередині роду [8–11]. Ми клонували ділянку МГС 5S рДНК двох видів секції *Cruciata* – *G. cruciata* L. і *G. dahurica* Fisch. та дослідили її міжвидову і внутрішньогеномну варіабельність [11]. Наявність в базі даних Genbank нуклеотидних послідовностей повного геному деяких рослин (у т.ч. і тирличів) дозволяє провести вивчення повного набору генів 5S рРНК з подальшим аналізом їхньої варіабельності та порівняння з іншими видами. Це, в свою чергу, відкриває нові можливості для вивчення мінливості та еволюції цього важливого для життєдіяльності клітини багатокопійного гена в межах індивідуального геному.

Метою роботи було дослідження генів

5S рРНК виду *G. macrophylla* шляхом біоінформатичного аналізу референтного геному цього виду, а також вивчення особливостей організації ділянки міжгенного спейсера 5S рДНК з порівняльним аналізом з іншими представниками секції *Cruciata*.

Матеріали і методи

Для дослідження використали референтний геном *G. macrophylla*, наявний в базі даних GenBank № GCA_026214975.1 (ASM2621497v1). Початковий пошук генів 5S рРНК в геномі проводили за допомогою програмного забезпечення Blast із використанням часткової нуклеотидної послідовності кодуєчої ділянки гена 5S рРНК *G. cruciata* (Genbank ID PP514363). Нуклеотидні послідовності окремих хромосом, на яких було знайдено осередки рибосомних повторів, завантажували на локальний ПК. Після цього картували гени 5S рРНК на основі знайдених кодувальних ділянок і експортували картовані рибосомні повтори у вигляді окремих послідовностей в програмі Unipro UGENE [12].

Вирівнювання і групування отриманих послідовностей проводили з використанням алгоритму MUSCLE з подальшим уточненням вручну у програмі Unipro UGENE [12]. Ту ж саму програму використано для отримання консенсусних послідовностей для кожного з класів і обрахунку матриці подібності (з урахуванням та без урахування пропусків) між ними. Для порівняльного аналізу використано нуклеотидні послідовності МГС 5S рДНК двох інших видів секції *Cruciata* – *G. cruciata* (PP514363) і *G. dahurica* (PP514366), наявні в GenBank.

Результати та обговорення

Початковий пошук генів 5S рРНК в референтному геномі *G. macrophylla* з використанням в якості матриці клонованих раніше послідовностей кодуєчої частини гена 5S рРНК *G. cruciata* виявив найбільшу кількість гомологічних ділянок на 7-й хромосомі (GenBank CM047811). Крім того, невелику групу повторів 5S рДНК було знайдено також на 13-й хромосомі (GenBank CM047817). На інших хромосомах також було виявлено ділянки, гомологічні до кодуєчої частини гена 5S рРНК, але їхня кількість не перевищувала однієї-двох копій. Подальше картування і виділення індивідуальних рибосомних повторів дозволило точніше встановити їх кількість на цих двох хромосомах.

На 7-й хромосомі було знайдено загалом 463, а на 13-й хромосомі – 12 копій повторів 5S рДНК. Після вирівнювання і сортування близько чверті повторів (120), знайдених на 7-й хромосомі, було виключено з аналізу, оскільки їхня нуклеотидна послідовність мала значні унікальні відмінності від решти повторів або була неповною, що могло бути спричинено помилками при сиквенуванні.

Проведений порівняльний аналіз 343 повторів 5S рДНК з 7-ї хромосоми, які залишилися, та 9 повторів з 13-ї хромосоми показав, що на основі довжини і нуклеотидної послідовності ділянки МГС їх можна розділити на 4 класи: S, M, L та XL. Крім того, в межах класу M ми виділили три підкласи, два з яких, а саме M7.1 та M7.2, були знайдені на 7-й хромосомі, а третій (M13) – на 13-й хромосомі. Характеристики цих класів і підкласів наведено у табл. 1.

Як видно із табл. 1, довжина повного гена 5S рРНК різних класів варіювала в межах геному у діапазоні 440–719 п.н. Розмір МГС був меншим приблизно на 120 п.н., що відповідає довжині кодуєчої ділянки гену 5S рРНК, і становив 323–597 нуклеотидів. В найчисельнішому з підкласів (M7.1), до складу якого увійшли 239 або 70% всіх проаналізованих генів з 7-ї хромосоми, довжина МГС становила від 394 до 415 п.н. У 12 повторів з цього класу були виявлені протяжні делеції (до 60 п.н.) в другій половині ділянки МГС. Другим за чисельністю (48 копій або 14%) був клас M7.2 з довжиною МГС 392–407 п.н., дуже подібний (94%) за послідовністю до варіанту M7.1 (табл. 1, 2). Відмінності за довжиною від типового повтору з класу M7.1 та між окремими повторами всередині класу M7.2 були зумовлені переважно делеціями розміром 1–3 нуклеотиди. Крім того, було знайдено 34 (10%) рибосомні повтори з вкороченим МГС розміром 347–363 п.н., які були віднесені до класу S. Також на 7-й хромосомі виявлені довгі повтори 5S рДНК, у яких довжина МГС становила 586–597 та 446–500 п.н., в кількості 14 (4%) та 8 (2%) копій, відповідно, які були віднесені до класів XL та L. Подібно до класу M7.1, всередині класів S і L також було знайдено відповідно 1 та 2 повтори з протяжними делеціями в ділянці МГС. Подібність нуклеотидних послідовностей МГС цих класів і класу M7.1 була нижчою і становила 90% для класу S, 89% для класу L і 66% для класу XL. Повтори, розташовані на 13-й хромосомі, були відносно гомогенними. Їх загальна довжина становила 516–

532 п.н., а довжина МГС – 400–412 п.н. Тобто за розміром вони належали до класу М. Рівень подібності МГС повторів з 13-ї хромосоми (М13) і повторів класів М7.1 та М7.2 з 7-ї хромосоми становив 98% та 93%, відповідно (табл. 2).

Порівняльний аналіз з двома іншими видами секції *Cruciata* – *G. cruciata* й *G. dahurica* показав, що нуклеотидна послідовність МГС 5S рДНК у них має високий рівень подібності до найбільш чисельного класу рибосомних повто-

рів *G. macrophylla* (М7.1), який становив 97% та 98%, відповідно (тут і нижче наведено дані з урахуванням пропусків) (табл. 2). Наступним за рівнем подібності був клас 5S рДНК, знайдений на хромосомі 13 (М13) з рівнями подібності 95% та 97%, відповідно. У випадку МГС класу М7.2 рівень подібності до обох видів становив 92%. МГС решти класів мали рівень подібності нижче 90%. Водночас, в більшості випадків рівень подібності до *G. dahurica* був вищим.

Таблиця 1. Характеристики класів повторів 5S рДНК різної довжини, знайдених в референтному геномі *G. macrophylla*

	Кількість	Частка	Довжина повного повтору, п.н.	Довжина МГС, п.н.
Хромосома 7				
Всього знайдено	463			
Проаналізовано	343	100%		
XL	14	4%	704–719	586–597
L	8	2%	557–615	446–500
М7.1	239	70%	440–537	394–415
М7.2	48	14%	509–524	392–407
S	34	10%	464–483	347–363
Хромосома 13				
Всього знайдено	12			
Проаналізовано М13	8		516–532	400–412

Таблиця 2. Рівень подібності консенсусних послідовностей МГС різних класів 5S рДНК *G. macrophylla* та двох інших видів секції *Cruciata*

Вид / клас повторів <i>G.m.</i>	<i>G. cruciata</i>	<i>G. dahurica</i>	XL	L	М7.1	М7.2	М13	S
<i>G. cruciata</i>	100%	93%	92%	93%	95%	88%	93%	83%
<i>G. dahurica</i>	95%	100%	93%	95%	96%	88%	96%	83%
XL	63%	64%	100%	72%	66%	60%	64%	57%
L	86%	88%	72%	100%	87%	79%	86%	75%
М7.1	97%	98%	66%	89%	100%	91%	97%	86%
М7.2	92%	92%	60%	83%	94%	100%	92%	81%
М13	95%	97%	64%	88%	98%	93%	100%	89%
S	88%	89%	57%	81%	90%	86%	96%	100%

Примітки: права верхня частина таблиці містить показники подібності без урахування пропусків, нижня ліва – з урахуванням пропусків у вирівнюванні. Для порівняння використані нуклеотидні послідовності МГС *G. cruciata* (PP514363) й *G. dahurica* (PP514366), доступні в GenBank.

Вирівнювання консенсусних послідовностей МГС, отриманих для кожного з класів 5S рДНК *G. macrophylla*, та МГС двох інших видів секції *Cruciata* – *G. cruciata* й *G. dahurica*, а також їхній детальний аналіз дозволили виділити регуляторні елементи, типові для цієї ділянки геному різних рослин, та встановити особливості їхньої організації (рис. 1). Зокрема, на 5'-кінці МГС усіх класів повторів розташована оліго-dT послідовність довжиною 5– нуклеотидів, яка відповідає за термінацію транскрипції. Ця послідовність, обмежена по краях залишками цитозину, в усіх класах представлена двома копіями. На 3'-кінці МГС, що передуює кодувальному регіону гена 5S рРНК, в положенні -27 – -23 п.н. розташована АТ-багата ділянка (ТАТА-бокс). Для *Arabidopsis thaliana* показано необхідність цього елемента для ініціації транскрипції [13]. Так само як у *A. thaliana* та інших видів деяких родин покритонасінних рослин, в позиції -13 п.н. розташований консервативний GC-елемент, а в позиції -1 знаходиться цитозин, також описаний раніше для *A. thaliana* [13]. Збереження функціональних елементів в МГС всіх класів рибосомних повторів *G. macrophylla* свідчить на користь їх потенційної активності.

Аналіз нуклеотидних послідовностей МГС різних класів 5S рДНК встановив наявність на 5'-кінці спейсера тандемних повторюваних послідовностей двох типів (рис. 1, 2). Субповтори довжиною 51 п.н. у різній кількості виявлені в МГС усіх чотирьох класів повторів 5S рДНК. У найменшому за довжиною класі S ця ділянка представлена однією копією, в найчисельніших рибосомних повторах класу М 7-ї хромосоми та 13-ї хромосоми знайдено дві копії, у МГС класу L – три копії, а класу XL – чотири копії. Однак в класу XL, на відміну від L, друга і третя копії субповтору розділені ділянкою довжиною 94 п.н., а третя копія є неповною – в ній відсутня одна з двох Т-багатих ділянок, розташованих на 5'-кінці. Причиною цього є дуплікація протяжної ділянки довжиною 189 п.н., яка призвела до утворення рибосомних повторів класу XL з повторів класу М. Ця дуплікована ділянка починається з цитозину, розташованого в положенні 8, і тому включає в себе лише частину першого з субповторів довжиною 51 п.н. Дві копії цієї ділянки відрізняються між собою внаслідок делеції двох нуклеотидів, а також 11 однонуклеотидних замін, що відбулися в першій копії. Знайдені відмінності свідчать про давню природу цієї дуплікації.

У цій роботі ми проаналізували референтний геном *G. macrophylla* з метою пошуку генів 5S рРНК та подальшого аналізу мінливості ділянки міжгенного спейсера, а також її порівняння з послідовностями МГС двох інших видів секції *Cruciata*, а саме *G. cruciata* і *G. dahurica*, досліджених нами раніше. Проведений повногеномний пошук виявив протяжні масиви рибосомних повторів на 7-й хромосомі, що включали понад 450 копій гена, і невеликий локус на 13-й хромосомі, сформований 12 копіями. Ці результати загалом узгоджуються з наявними даними цитогенетичних досліджень двох тетраплоїдних видів ($2n = 52$) *G. cruciata* L. і *G. tibetica* King з секції *Cruciata*, FISH-аналіз яких виявив в каріотипі два і чотири локуси 5S рДНК, відповідно [14]. *G. macrophylla* є диплоїдним видом з числом хромосом $2n = 2x = 26$ [2], а отже може містити один локус 5S рДНК на гаплоїдний геном, який й було виявлено на 7-й хромосомі. Інший локус на 13-й хромосомі, внаслідок невеликого розміру найімовірніше не детектується за допомогою FISH.

Результати аналізу генів 5S рРНК показали, що на 7-й хромосомі вони представлені щонайменше чотирма основними класами рибосомних повторів, які істотно відрізняються за довжиною та нуклеотидною послідовністю. Порівняння консенсусних послідовностей, отриманих для кожного з класів повторів, виявило, що відмінності між класами S, М та L зумовлені різницею в кількості субповторів довжиною 51 п.н., розташованих на 5'-кінці МГС (1, 2 і 3 копії, відповідно). Утворення найбільшого за довжиною класу XL відбулося ймовірно з повтору класу М дещо іншим шляхом, а саме внаслідок дуплікації ділянки довжиною 189 п.н., також розташованої на початку спейсера. Подібний механізм збільшення розміру МГС 5S рДНК в процесі еволюції спостерігається і в інших видів роду *Gentiana*. Зокрема, у *G. acaulis* в положенні 44–203 розташовані дві копії субповтору довжиною 80 п.н., у *G. pneumonanthe* на початку МГС – дві копії субповтору довжиною 52 п.н., а у *G. nivalis* – три копії субповтору довжиною ~50 п.н. [9]. Раніше вважалося, що гени 5S рРНК подібно до інших тандемних повторів можуть зазнавати гомогенізації внаслідок узгодженої (концертної) еволюції, принаймні у тих випадках, коли вони розташовані в одному локусі [7]. Дійсно, до цього часу нам не вдалося знайти у представників роду *Gentiana*, в тому числі і у двох видів секції *Cruciata*, варіантів

5S рДНК, які б значно відрізнялися за довжиною і відповідно за структурною організацією. У випадку *G. macrophylla* на одній хромосомі розташовані чотири різних типи повторів з різною довжиною. Збереження в геномі різних варіантів повторів 5S рДНК створює додаткове підґрунтя для забезпечення генетичної пластичності виду завдяки наявності додаткового матеріалу для добору. Водночас, повтори класу М

складають понад 80% всіх генів 5S рРНК, що свідчить про тиск добору, який сприяє спрямованій ампліфікації саме цього класу повторів, і пояснює низьку імовірність виявлення інших класів повторів. Слід зазначити також відмінності рибосомних повторів з 13-ї хромосоми від повторів з 7-ї хромосоми подібного розміру, які можуть вказувати на їхню незалежну еволюцію.

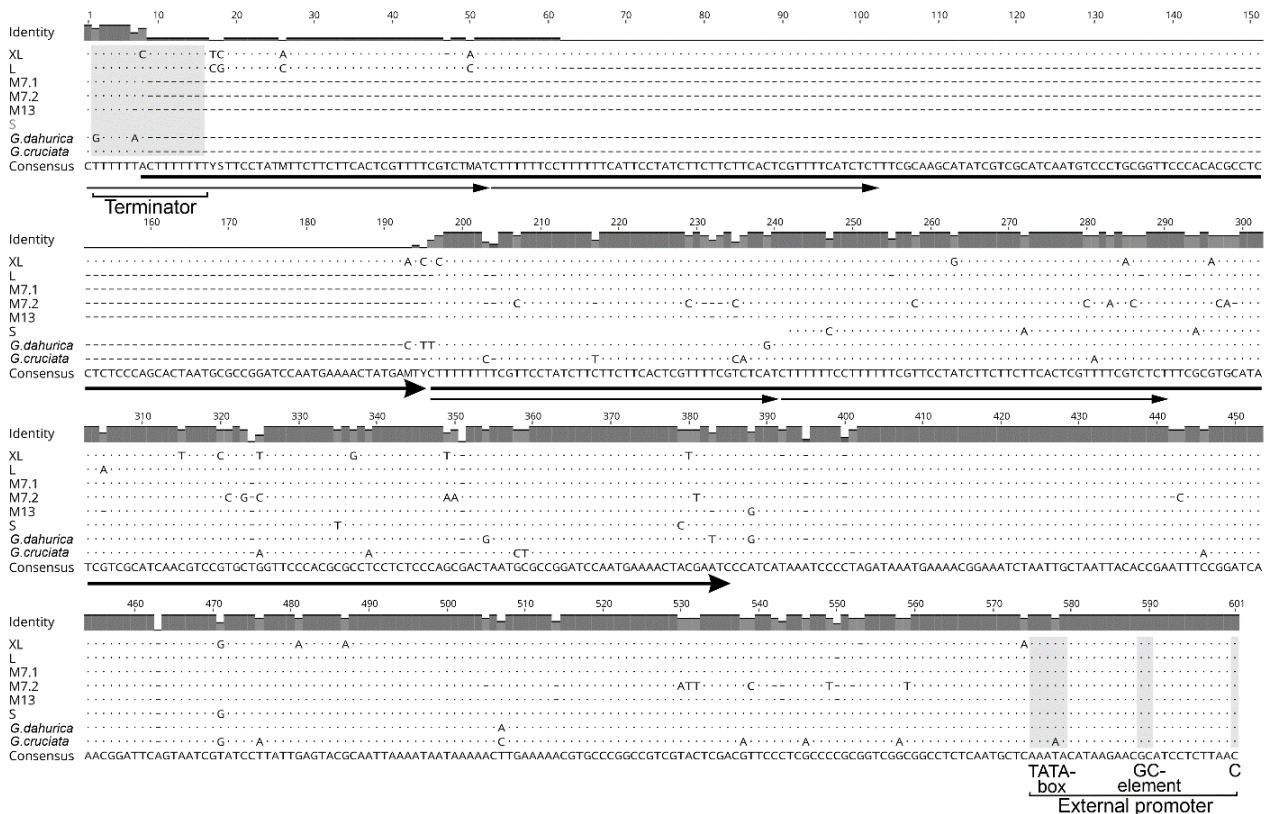


Рис. 1. Вирівнювання нуклеотидних послідовностей міжгенного спейсера різних класів 5S рДНК *G. macrophylla* і споріднених видів *G. cruciata* (PP514363) й *G. dahurica* (PP514366) із секції *Cruciata*. Сірим кольором виділено оліго-Т послідовність потенційного термінатора та елементи зовнішнього промотора РНК-полімерази ІІІ. Дупліковані ділянки позначено стрілками: тонкою – субповтор довжиною 51 п.н., жирною – субповтор довжиною 189 п.н.

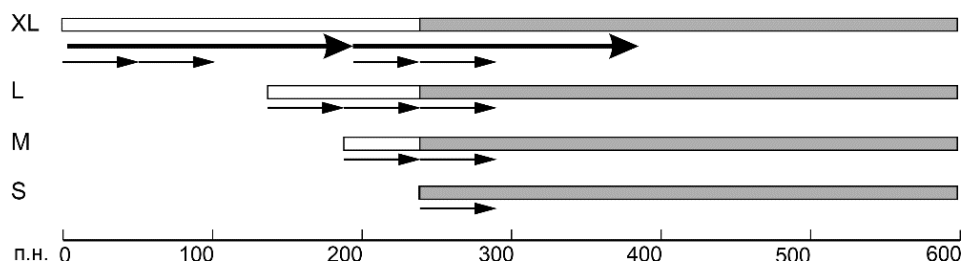


Рис. 2. Схематичне зображення структури міжгенного спейсера різних класів 5S рДНК *G. macrophylla*. Сірим кольором показано ділянку з високим рівнем подібності у всіх варіантів, тонкою стрілкою позначено субповтор довжиною 51 п.н., жирною – субповтор довжиною 189 п.н.

Порівняльний аналіз нуклеотидної послідовності МГС *G. macrophylla* та інших видів секції виявив більшу спорідненість з *G. dahurica*. Це можна пояснити тим, що більшість видів секції, включно з цими двома, поширені в Західному Китаї та Гімалайському регіоні, тоді як *G. cruciata* – єдиний європейсько-азійський вид секції.

Висновки

Повногеномний аналіз встановив, що в геномі *G. macrophylla* гени 5S рРНК організовані у вигляді масивів тандемних повторів, розташованих на двох хромосомах. На 7-й хромосомі виявлено близько 460 копій рибосомних повторів, які відрізняються за довжиною та послідовністю ділянки МГС і можуть бути розділені на 4 класи. Рівень подібності МГС різних класів між собою становить 57-90%. Серед них 84% складають повтори довжиною 392–415 п.н., які за нуклеотидною послідовністю МГС мають високий рівень подібності до 5S рДНК двох інших видів секції *Cruciata*. На 13-й хромосомі знайдено 12 копій генів 5S рРНК, які на 98% подібні

до найчисельнішого варіанту з 7-ї хромосоми. Наявність в МГС повторів 5S рДНК всіх класів типових для інших квіткових рослин регуляторних елементів транскрипції вказує на їх потенційну активність. Відмінності між трьома класами обумовлені різницею в кількості субповторів довжиною 51 п.н., розташованих на початку МГС, четвертий клас утворився з найчисельнішого класу внаслідок дуплікації ділянки протяжністю 189 п.н. Такий механізм еволюції МГС за рахунок дуплікації фрагменту, розташованого на початку спейсера, знайдений і в інших видів тирличів. В цілому, отримані дані свідчать про існування в геномі *G. macrophylla* різних варіантів повторів 5S рДНК, що може створювати підґрунтя для забезпечення генетичної пластичності завдяки наявності додаткового матеріалу для добору.

Роботу проведено за фінансової підтримки Фонду Simons Foundation, США (Award #1030279, І. О. Андреев), а також в рамках виконання НДР «Генетичні і фізіолого-біохімічні механізми адаптації рослин до екстремальних умов довкілля» (№ 0120U105249).

References

1. POWO. Gentiana macrophylla [Internet]. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet. 2025. Available from: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:368470-1>.
2. Yuan Y. M. Karyological studies on Gentiana section Cruciate Gaudin (Gentianaceae) from China. Caryologia. 1993. Vol. 46 (2–3). P. 99–114. <https://doi.org/10.1080/00087114.1993.10797252>.
3. Tan R. X., Wolfender J. L., Zhang L. X., Ma W. G., Fuzzati N., Marston A., et al. Acyl secoiridoids and antifungal constituents from Gentiana macrophylla. Phytochemistry. 1996. Vol. 42 (5). P. 1305–1313. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00149-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00149-5).
4. Yu F., Yu F., Li R., Wang R. Inhibitory effects of the Gentiana macrophylla (Gentianaceae) extract on rheumatoid arthritis of rats. J. Ethnopharmacol. 2004. Vol. 95 (1). P. 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.06.025>.
5. Kim K., Rhee H., Park E., Jung K., Jeon H., Kim J.H., et al. Anti-inflammatory effects of Radix Gentianae Macrophyllae (Qinjiao), Rhizoma Coptidis (Huanglian) and Citri Unshiu Pericarpium (Wenzhou migan) in animal models. Chin. Med. 2008. Vol. 3 (1). P. 10. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-3-10>.
6. Zhou T., Bai G., Hu Y., Ruhsam M., Yang Y., Zhao Y. De novo genome assembly of the medicinal plant Gentiana macrophylla provides insights into the genomic evolution and biosynthesis of iridoids. DNA Res. 2022. Vol. 29 (6). <https://doi.org/10.1093/dnares/dsac034>.
7. Cloix C., Tutois S., Mathieu O., Cuvillier C., Espagnol M.C., Picard G., et al. Analysis of 5S rDNA arrays in Arabidopsis thaliana: Physical mapping and chromosome-specific polymorphisms. Genome Res. 2000. Vol. 10 (5). P. 679–690. <https://doi.org/10.1101/gr.10.5.679>.
8. Andreev I. O., Melnyk V. M., Myryuta G. Y., Kunakh V. A. Polymorphism of 5S rDNA intergenic spacer in some Gentiana species. Factors Exp. Evol. Org. 2017. Vol. 20. P. 42–6. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v20.731>.
9. Andreev I. O., Melnyk V. M., Myryuta G. Y., Shelifist A. E., Volkov R. A., Kunakh V. A. Molecular organization of the intergenic spacer of 5S rDNA in some species of the genus Gentiana L. In: Volkov R., editor. 5S ribosomal DNA of flowering plants [Internet]. Chernivtsi: Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University. 2021. P. 105–122. Available from: http://utgis.org.ua/images/pdf/books/Volkov_Monograph.pdf.
10. Mel'nyk V. M., Andreev I. O., Myryuta G. Y., Shelyfist A. Y., Volkov R. A., Kunakh V. A. Molecular organization of 5S rDNA intergenic spacer in Gentiana pneumonanthe L. and G. punctata L. Bull. Vavilov Soc. Genet. Breeders Ukr. 2020. Vol. 18 (1–2). P. 9–15. <https://doi.org/10.7124/visnyk.utgis.18.1-2.1349>.
11. Mel'nyk V. M., Andreev I. O., Volkov R. A., Kunakh V. A. 5S rDNA intergenic spacer of some species of Cruciate and Chondrophyllae sections and its application in taxonomy of genus Gentiana. Fakt. Eksp. Evol. Org. 2024. Vol. 34. P. 75–81. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v34.1620>.
12. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., Varlamov A., Vaskin Y., Efremov I., et al. Unipro UGENE: A unified bioinformatics toolkit. Bioinformatics. 2012. Vol. 28 (8). P. 1166–1167. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTS091>.

13. Douet J., Tourmente S. Transcription of the 5S rRNA heterochromatic genes is epigenetically controlled in *Arabidopsis thaliana* and *Xenopus laevis*. *Heredity* (Edinb). 2007. Vol. 99 (1). P. 5–13. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800964>.
14. Tomiczak K. Molecular and cytogenetic description of somatic hybrids between *Gentiana cruciata* L. and *G. tibetica* King. *J. Appl. Genet.* 2020. Vol. 61 (1). P. 13–24. <https://doi.org/10.1007/s13353-019-00530-x>.

ANDREEV I. O., MEL'NYK V. M., KUNAKH V. A.

*Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine,
Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnogo str., 150*

GENOME WIDE ANALYSIS OF 5S RIBOSOMAL RNA GENES IN *GENTIANA MACROPHYLLA*

Due to their unique structure, 5S rRNA genes are used in research of genome evolution and as a molecular marker.

Aim. The aim of the study was to investigate the intergenic spacer (IGS) of 5S rRNA genes of *Gentiana macrophylla*

Pall. **Methods.** The bioinformatic analysis of nucleotide sequences of 5S rDNA IGS found by searching the reference *G. macrophylla* genome was conducted.

Results. It was determined that the majority of 5S rRNA genes in the *G. macrophylla* genome (approximately 460 copies) are arranged as tandem repeats on chromosome 7. The IGS region was found to be variable in terms of length and sequence, and all repeats were divided into four classes. Of these, 84% were similar in their nucleotide sequence to 5S rDNA IGS of two other species of the *Cruciata* section. The IGS of all classes contains regulatory elements typical for 5S rDNA of other flowering plants. The differences among the various classes are attributable to the presence of duplicated regions at the beginning of the IGS. This mechanism of IGS evolution due to the duplication at the beginning of the spacer has been previously identified in other gentians.

Conclusions. The data obtained indicate the existence of different variants of 5S rDNA repeats in the *G. macrophylla* genome, which may provide the basis for genetic plasticity.

Keywords: *Gentiana macrophylla*, intergenic spacer, 5S rDNA, molecular organization, variation.