

УДК 577.212.3:595.789

МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ЕВОЛЮЦІЯ 5S РИБОСОМНОЇ ДНК *SPHINX LIGUSTRI*

А.П. СТАТНА, О.В. ЧЕРЕВАТОВ, Р.А. ВОЛКОВ

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
Україна, 58012, м. Чернівці, вул. Коцюбинського, 2
e-mail: ra.volkov@gmail.com

Мета. 5S рДНК належить до класу помірно повторюваних тандемно організованих послідовностей. Кожна повторювана одиниця складається з консервативної ділянки, що кодує 5S рРНК, і мінливого міжгенного спейсера (МГС). Уявлення про організацію та еволюцію 5S рДНК у багатьох групах безхребетних тварин, включаючи лускокрилих, все ще залишаються обмеженими. Метою представленого дослідження було описати молекулярну організацію 5S рДНК бражника бузкового (*Sphinx ligustri*), який є представником родини Sphingidae. **Методи.** Повторювані ділянки 5S рДНК були ампліфіковані за допомогою ПЛР, клоновані в бактеріальний вектор і сиквеновані. **Результати.** У гені *S. ligustri* виявлено два варіанти повторюваних одиниць 5S рДНК, які відрізняються за довжиною. Обидва варіанти містять ділянку, що кодує 5S рРНК довжиною 120 нп, але мають МГС різних розмірів, 75 і 123 нп, відповідно. Попри низьку подібність послідовностей (62,7%) довший МГС варіант утворився від короткого внаслідок дуплікації більшої частини МГС. Відсутність суттєвої подібності послідовностей МГС різних видів метеликів показує, що зовнішні елементи промотору, які беруть участь в ініціації транскрипції 5S рДНК, не зберігаються протягом еволюції в різних родинах лускокрилих.

Ключові слова: Sphingidae, Lepidoptera, 5S рДНК, молекулярна еволюція, організація промотору.

Вступ. Гени рРНК (рДНК) належать до тандемно повторюваних послідовностей, які часто використовують у філогенетичних дослідженнях [1, 2]. Сьогодні достатньо поширеним є використання рДНК, зокрема 5S рДНК, як молекулярного та цитогенетичного маркера при вивченні різних груп рослин [1, 3, 4] та лише деяких груп тварин [2, 5 – 8], де ця ділянка геному знаходить застосування у молекулярній таксономії.

Відомо, що повторювана ділянка 5S рДНК еукаріот складається з частини, що кодує 5S рРНК, та варіабельного міжгенного спейсера (МГС). Кодуюча ділянка є висококонсервативною та має розмір 120 нп, водночас довжина МГС, зазвичай, коливається від 200 до 1000 нп [3, 9, 10].

Попередні дослідження нашої лабораторії виявили суттєву мінливість 5S рДНК у представників різних родин Lepidoptera [11], що вказує на необхідність детальнішого вивчення організації та еволюції цієї ділянки геному у лускокрилих.

До родини Sphingidae входить більше ніж 1200 видів переважно сутінкових метеликів порівняно великих розмірів та специфічної будови. Родина Sphingidae охоплює 3 підродини, що містять 24 роди; представники родини поширені в помірних та тропічних зонах [12]. Організація 5S рДНК у видів цієї родини

© А.П. СТАТНА, О.В. ЧЕРЕВАТОВ, Р.А. ВОЛКОВ, 2013

все ще залишається недослідженою. Відповідно, у представленій роботі наведено результати аналізу молекулярної організації 5S рДНК одного з представників родини Sphingidae – бражника бузкового (*Sphinx ligustri* Rottemburg, 1775) та обговорюються можливі механізми молекулярної еволюції 5S рДНК лускокрилих.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження були метелики виду *Sphinx ligustri*. Загальну ДНК екстрагували з тіла метелика згідно зі стандартним протоколом з використанням джергента додецилсульфату натрію [13, 14].

Для ампліфікації повторюваної ділянки 5S рДНК методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) використовували пару праймерів RV0804 (5'-CATTGCGGCCGC-TTGCTTGACTTCGGTGATCGGA-3') та RV0901 (5'-CATGGCGGCCGCA-GCCTGGGAACACCGCGTGA-3'), які було розроблено нами раніше [11]. Ці праймери є комплементарними до ділянки, що кодує 5S рПНК, у декількох видів членистоногих та містять на 5'-кінці додатковий сайт впізнавання рестриктази *Not I* (GCGGCCGC), який використовували для клонування ПЛР-продуктів. Місце посадки праймерів було обрано так, щоб досягти ампліфікації повного МГС та фрагментів кодуєчих ділянок, що межують із ним, за винятком частини кодуєчої ділянки між 5'-кінцями використаних праймерів (рисунок). Згідно з розрахунками розмір фрагмента, який має залишатися неампліфікованим, становить 33 нп.

Ампліфікацію 5S ДНК, аналіз та клонування ПЛР-продуктів проводили, як було описано нами раніше [15]. Вставки 5S рДНК отриманих рекомбінантних клонів сиквенували з використанням Big Due Terminator Cycle Sequencing Kit на сиквенаторі ABI Prism 310 (PE Applied Biosystems, США). Первинну обробку та аналіз отриманої нуклеотидної послідов-

ності проводили за допомогою комп'ютерної програми Chromas та пакету програм комп'ютерної обробки даних DNASTAR [16]. Пошук послідовностей у Genbank здійснювали за допомогою програми BLAST [17].

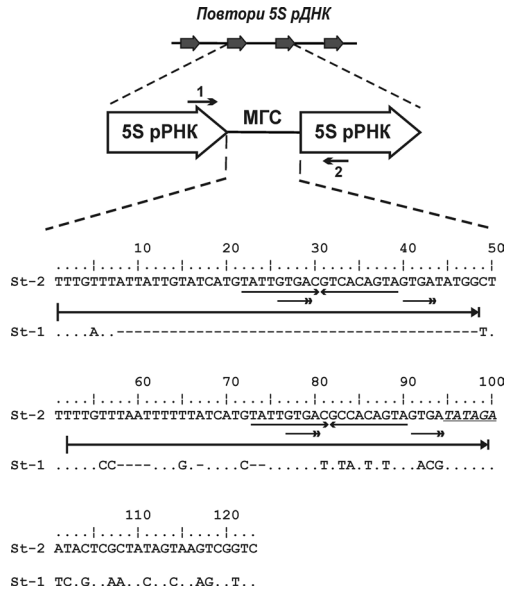


Рисунок. Порівняння первинної нуклеотидної послідовності МГС довгого (St-2) та короткого (St-1) варіантів 5S рДНК *Sphinx ligustri*. Стрілками у верхній частині малюнка наведено локалізацію праймерів RV0901 (1) та RV0804 (2), використаних для ампліфікації 5S рДНК. У межах послідовності МГС одинарними стрілками вказані обернені повтори, подвійними стрілками – тетра-нуклеотидні дуплікації, а товстою довгою стрілкою – велику дуплікацію, присутню лише у довгому варіанті МГС. Мотив TATAGA, який може брати участь у ініціації транскрипції, позначено підкресленням.

Результати та обговорення

Електрофоретичне розділення отриманих продуктів ПЛР показало, що ампліфікація повторюваної ділянки 5S рДНК *S. ligustri* приводить до утворення двох фрагментів ДНК: основного – довжиною близько 200 нп та мінорного – близько 100 нп. Отриману суміш ПЛР-продуктів було клоновано у бактеріальний вектор без попередньої селекції за розміром.

За результатами скринінгу з використанням методу *blue-white colony selection* було ідентифіковано чотирнадцять колоній трансформантів білого кольору, з яких було виділено плазмід для подальшого картування. Обробка цих плазмід рестриктазами *Pst*I + *Sac*I приводила до утворення двох фрагментів ДНК. Фрагмент більшої довжини в усіх плазмід мав розмір приблизно 2800–2900 нп, що відповідає розміру векторної плазмід рBluescript II KS, тоді як фрагмент меншої довжини, що відповідає вставці, мав різний розмір у різних клонів. Назагал ідентифіковано чотири плазміді зі вставкою довжиною близько 250 нп (довгі клони) та шість плазмід довжиною 200 нп (короткі клони), що відповідає довжинам ПЛР-продуктів, які використано для клонування. Для подальшого сиквенування відібрано один довгий та один короткий клони.

Аналіз отриманих результатів показав, що вставки обох досліджених плазмід містять на кінцях послідовності праймерів, використаних при проведенні ПЛР. За результатами сиквенування довгий клон – рSpli-St2 – містив вставку довжиною 225 нп, а короткий – рSpli-St1 – 177 нп. Отже, у геномі *S. ligustri* присутні як мінімум два варіанти повторів 5S рДНК, що відрізняються за розміром (див. рисунок).

Вирівнювання отриманих послідовностей показало, що рівень подібності між довгим та коротким клонами становить 71,9 %.

Для визначення границь між кодуючою ділянкою та МГС отримані нами послідовності було порівняно із послідовністю 5S рДНК шовкопряда *B. mori* (реєстраційний номер у Genbank – L00335 [18]) та із послідовностями 5S рПНК *Philosamia cynthia* (K02354, X13039 [19, 20]) та *Antheraea pernyi* (X13035, X13036 [20]). Встановлено, що вставки двох сиквенуваннями нами клонів (рSpli-St1, -St2) містять по краях фрагменти кодуючої ділянки розміром

28 нп (включаючи послідовність праймера RV0901) та 59 нп (включаючи послідовність праймера RV0804, див. рисунок) Зважаючи на те, що центральна частина кодуючої ділянки залишається неампліфікованою із застосуванням використаних нами праймерів (див. розділ «Матеріали і методи»), можна підрахувати, що загальний розмір ділянки, яка кодує 5S рПНК, у *S. ligustri* становить 120 нп, що збігається із довжиною цієї ділянки в інших тварин [21–23].

Для оцінки ступеня мінливості кодуючої ділянки 5S рПНК було підраховано кількість заміни нуклеотидів, що відрізняють отримані нами клони *S. ligustri* як між собою, так і від 5S рПНК інших видів метеликів. При розрахунках до уваги приймали лише фрагменти кодуючої ділянки, які перебували за межами послідовностей праймерів, використаних для ПЛР. Встановлено, що клон рSpli-St1 відрізняється від рSpli-St2 двома трансверсіями Т→А. Для порівняння вкажемо, що послідовності 5S рПНК *Bombix mori* відрізняються між собою на 3–4 точкові заміни нуклеотидів [18]. У цілому складається враження, що метеликам притаманний внутрішньогеномний поліморфізм за послідовністю кодуючої ділянки 5S рПНК.

Визначення границь кодуючої ділянки дозволило встановити, що довжина МГС для клонів рSpli-St1 та -St2 становить 75 та 123 нп (рисунок). Це дорівнює загальній довжині повторюваної одиниці 5S рДНК у 195 та 243 нп, відповідно. Отже, згідно з розробленою нами раніше класифікацією за довжиною повтору [15], 5S рДНК *S. ligustri* належать до класу М. Порівняння отриманих нами послідовностей із аналогічними ділянками геному досліджених раніше видів Lepidoptera [24, 25] та інших тварин, рослин та грибів [1, 23, 26 – 28] дозволило встановити, що 5S рДНК *S. ligustri* є однією з найкоротших із відомих на сьогодні рибосомних генів.

Застосування для вирівнювання послідовностей методу Clustal W (Gap penalty = 10; gap length penalty = 10 [16]) дозволило встановити, що в межах МГС рівень подібності між клонами рSpl-St1 та -St2 становить лише 62,7 %. При цьому різниця за довжиною між двома клонами пов'язана в першу чергу із дуплікацією фрагмента МГС довжиною 48 нп, який присутній один раз у рSpl-St1 і два рази – у рSpl-St2 (рис.). Крім того, у МГС короткого клону рSpl-St1 протягом подальшої еволюції відбулася делеція декількох нуклеотидів. Низький рівень подібності двох МГС *S. ligustri* також обумовлений 24 нуклеотидними замінами, з яких 12 є транзичіями, а 12 – трансверсіями. Накопичення численних мутацій у межах дуплікованої ділянки свідчить, що ця дуплікація, а отже – виникнення двох варіантів 5S рДНК *S. ligustri* мали місце досить давно, імовірно на ранніх етапах еволюції роду *Sphinx*, а можливо, – і всієї родини Sphingidae.

Детальний аналіз послідовності клонів рSpl-St1 та -St2 показав, що в межах фрагмента МГС, який зазнав дуплікації, присутня пара інвертованих повторів довжиною 18 нп. Чотири нуклеотиди, що входять до складу цієї структури, зазнали додаткової дуплікації (див. рисунок).

У наших попередніх дослідженнях встановлено, що у геномах булавоносих метеликів із родин Satyridae, Nymphalidae та Lycaenidae зазвичай присутні декілька структурних класів 5S рДНК, які суттєво відрізняються між собою організацією МГС, і це, зокрема, відображається на його довжині. Знайдені відмінності пов'язані переважно зі значними делеціями або інсерціями та часто спричинені ампліфікацією мікросателітної послідовності АТТ [18]. Наші нові дані показують, що одночасна присутність у геномі кількох варіантів 5S рДНК характерна і для філогенетично більш віддаленої родини Sphingidae. Декілька копій мікросателітної послідовності

АТТ також знайдено у МГС 5S рДНК *S. ligustri*, проте ампліфікація цього мотиву навряд чи грала роль у молекулярній еволюції 5S рДНК цього виду.

Порівняння отриманих послідовностей з МГС інших видів метеликів (*Bombix mori* [18, 19], *Satyryus drias* [11], *Melitaea trivialis* [25], *Polyommatus icarus* [24], *Lycaena tityrus* [15]) показало, що рівень подібності між МГС цих видів та *S. ligustri* не перевищує 40 %, тобто є низьким. Ці результати підтримують існуючі уявлення про високу швидкість молекулярної еволюції МГС.

Враховуючи низький рівень подібності між МГС *S. ligustri* та інших видів метеликів, видавалося важливим з'ясувати, чи протягом молекулярної еволюції у МГС збереглися зовнішні елементи промотору 5S рДНК.

Нагадаємо, що основну роль у транскрипції 5S рДНК у еукаріот відіграє внутрішній контрольний регіон (internal control region, ICR), який міститься в межах кодуючої ділянки. У 5S рДНК *Xenopus* до ICR приєднуються транскрипційні фактори TFIII-A, -B та -C, що необхідно для подальшого зв'язування РНК-полімерази III [29 – 31]. Послідовності, що містяться у МГС *Xenopus* у позиції від –26 до –11 нп від початку кодуючої ділянки не є необхідними для ініціації транскрипції, але вони беруть участь у її модуляції [32]. У 5S рДНК *Bombix mori* на відміну від *Xenopus* фрагмент МГС на відстані від –30 до –17 нп (зокрема – мотив ТАТАТА) є абсолютно необхідним для ініціації транскрипції [18]. Проте мотив ТАТАТА відсутній у МГС інших видів метеликів, хоча у них в аналогічній позиції присутні інші ТАТА-подібні послідовності: ТААТАТ та ТАГАГТ [25]. Аналіз сиквенонаних нами нових клонів *S. ligustri* показує, що послідовності МГС в позиції від –29 до –24 нп містять подібний мотив ТАТАГА. Назагал єдиним еволюційно консервативним мотивом у зовнішній промоторній зоні 5S рДНК у всіх досліджених видів метеликів

видається лише динуклеотид ТС (який в окремих випадках замінений на ТТ або СС), що міститься безпосередньо перед кодуючою ділянкою. Але, попри таку високу мінливість МГС, в усіх досліджених видів кодуюча ділянка залишається висококонсервативною. Крім того, безпосередньо після кодуючої ділянки у МГС присутня висококонсервативна послідовність ТТТГТТ, що, імовірно, необхідна для термінації транскрипції.

В цілому, отримані результати наводять на думку, що регуляторні сигнали, які містяться у МГС і беруть участь у ініціації транскрипції, можуть суттєво відрізнятися у видів метеликів, які належать до різних родин.

Висновки

У геномі *S. ligustri* присутні як мінімум два структурних варіанти повторів 5S рДНК, що відрізняються довжиною МГС. Ці результати підтверджують попередні дані про внутрішньогеномний поліморфізм цих послідовностей у метеликів інших родин. Незважаючи на низький рівень подібності, два варіанти 5S рДНК *S. ligustri* є еволюційно спорідненими. При цьому довгий варіант виник від короткого внаслідок дуплікації значної частини МГС.

Сиквеновані нами послідовності МГС 5S рДНК *S. ligustri* мають низький ступінь подібності із 5S рДНК інших видів метеликів. Це, зокрема, свідчить, що регуляторні сигнали, які містяться у МГС та беруть участь у ініціації транскрипції 5S рДНК, можуть суттєво відрізнятися у різних родин ряду Lepidoptera.

Перелік літератури

1. Volkov R.A., Zanke C., Panchuk I.I., Hemleben V. Molecular evolution of 5S rDNA of *Solanum* species (sect. *Petota*): application for molecular phylogeny and breeding // Theoret. Appl. Genet. – 2001. – Vol. 103. – P. 1273–1282.
2. Perina A., Seoane D., Gonzalez-Tizon A.M., Rodriguez-Farina F., Martinez-Lage A. Molecular organization and phylogenetic analysis of 5S rDNA in crustaceans of the genus *Pollicipes* reveal birth-and-death evolution and strong purifying selection // BMC Evol. Biol. – 2011. – Vol. 11. – P. 1–11.
3. Grimm G.W., Denk T. The reticulate origin of modern plane trees (*Platanus*, Platanaceae): A nuclear marker puzzle // Taxon. – 2010. – Vol. 59, № 1. – P. 134–147.
4. Singh D., Ahuja P.S. 5S rDNA gene diversity in tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) and its use for variety identification // Genome. – 2006. – Vol. 49. – P. 91–96.
5. He W., Qin Q., Liu S., Li T., Wang J. et al. Organization and variation analysis of 5S rDNA in different ploidy-level hybrids of red Crucian Carp × Topmouth Culter // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7, № 6. – P. 1–12.
6. Qin Q., He W., Liu S., Wang J., Xiao J., Liu Y. Analysis of 5S rDNA organization and variation in polyploid hybrids from crosses of different fish subfamilies // Mol. Devel. Evol. – 2010. – Vol. 314, № 5. – P. 403–411.
7. Cioffi M.B., Martins C., Bertollo L.A.C. Chromosome spreading of associated transposable elements and ribosomal DNA in the fish *Erythrinus erythrinus*. Implications for genome change and karyoevolution in fish // BMC Evol. Biol. – 2010. – Vol. 10. – P. 1–9.
8. Pinhal D., Yoshimura T. S., Araki C.S., Martins C. The 5S rDNA family evolves through concerted and birth-and-death evolution in fish genomes: an example from freshwater stingrays // BMC Evol. Biol. – 2011. – Vol. 11. – P. 1–14.
9. Cabral-de-Mello D.C., Moura R.C., Martins C. Chromosomal mapping of repetitive DNAs in the beetle *Dichotomius geminatus* provides the first evidence for an association of 5S rRNA and histone H3 genes in insects, and repetitive DNA similarity between the B chromosome and A complement // Heredity. – 2010. – Vol. 104, № 4. – P. 393–400.
10. Череватов О.В., Волков Р.А. Молекулярна організація 5S рДНК *Satyrus drias* (Lepidoptera) // Доповіді НАН України. – 2011. – № 1. – С. 140–144.
11. Череватов О.В., Волков Р.А. Поліморфізм 5S рДНК комах ряду Lepidoptera // Біол. сист. – 2009. – Т. 1. – С. 7–10.
12. Kitchingand I.J., Cadiou J.–M. Hawkmoths of the world: An annotated and illustrated revisionary checklist (Lepidoptera: Sphingidae) // Tropical Lepidoptera. – 2007. – 266 p.
13. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. Методы генетической инженерии – М.: Мир, 1984. – 479 с.

14. Панчук І.І., Волков Р.А. Практикум з молекулярної генетики. – Чернівці: Руга, 2007. – 120 с.
15. Череватов О.В., Статна А.П., Волков Р.А. Новый структурный підклас 5S рибосомної ДНК *Lucasena tityrus* // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 202–207.
16. DNASTAR, 1998. MegAlign 3.18 edit. Software distributed by DNASTAR Inc., Madison, WI, USA.
17. Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J. Gapped BLAST and PSIBLAST: a new generation of protein database search programs // Nucl. Acids Res. – 1997. – Vol. 25. – P. 3389–3402.
18. Morton G., Sprague K. *In vitro* transcription of a silkworm 5S RNA gene requires an upstream signal // Genetics. – 1984. – Vol. 81. – P. 5519–5522.
19. Xian-Rong G., Nicoghosian K., Cedergren R.J. 5S RNA sequence from the *Philosamia silkworm*: evidence for variable evolutionary rates in insect 5S RNA // Nucl. Acids Res. – 1982. – Vol. 10. – P. 5711–5716.
20. Qi G.R., Cao G.J., Jiang P., Feng X.L., Gu X.R. Studies on the sites expressing evolutionary changes in the structure of eukaryotic 5S ribosomal RNA // J. Mol. Evol. – 1988. – Vol. 27. – P. 336–340.
21. Suzuki H., Moriwaki K., Sakura S. Sequences and evolutionary analysis of mouse 5S rDNAs // Mol. Biol. Evol. – 1994. – Vol. 11. – P. 704–710.
22. Robles F., Herran R., Ludwig A., Rejon C.R., Rejon M.R., Garrido-Ramos M.A. Genomic organization and evolution of the 5S ribosomal DNA in the ancient fish sturgeon // Genome. – 2005. – Vol. 48. – P. 18–28.
23. Vierna J., Gonzalez-Tizon A.M., Martinez-Lage A. Long-term evolution of 5S ribosomal DNA seems to be driven by birth-and-death processes and selection in *Ensis* razor shells (Mollusca: *Bivalvia*) // Biochem. Genet. – 2009. – Vol. 47. – P. 635–644.
24. Череватов О.В., Волков Р.А. Молекулярна організація 5S рибосомної ДНК *Polyommatus icarus* // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 271–278.
25. Cherevatov O.V., Volkov R.A. Organization of 5S ribosomal DNA of *Melitaea trivialis* // Cytol. Genet. – 2011. – Vol. 45, № 2. – P. 115–120.
26. Тинкевич Ю.О., Волков Р.А. Структурна організація 5S рибосомальної ДНК *Rosa nitida* // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2011. – Т. 9, № 2. – С. 276–282.
27. Keller I., Chintauan-Marquier I.C., Veltsos P., Nichols R.A. Ribosomal DNA in the grasshopper *Podisma pedestris*: escape from concerted evolution // Genetics. – 2006. – Vol. 174. – P. 863–874.
28. Moreth U., Schmidt O. Investigations on ribosomal DNA of indoor wood decay fungi for their characterization and identification // Holzforschung. – 2005. – Vol. 59. – P. 90–93.
29. McConkey G.A., Bogenhagen D.F. Transition mutations within the *Xenopus borealis* somatic 5S RNA gene can have independent effects on transcription and TFIIIA binding // Mol. Cell. Biol. – 1987. – Vol. 7. – P. 486–494.
30. Pieler T., Hamm J., Roeder R.G. The 5S gene internal control region is composed of three distinct sequence elements, organized as two functional domains with variable spacing // Cell. – 1987. – Vol. 48. – P. 91–100.
31. Lassar A.B., Martin P.L., Roeder R.G. Transcription of class III genes: formation of preinitiation complexes // Science. – 1983. – Vol. 222. – P. 760–768.
32. Oei S., Pieler T. Transcription stimulatory factor binds to the upstream region of *Xenopus* 5S RNA and tRNA genes // J. Biol. Chem. – 1990. – Vol. 265. – P. 7485–7491.

Представлено І.О. Андрєєвим
Надійшла 12.11.2013

МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ І ЕВОЛЮЦІЯ 5S РИБОСОМНОЇ ДНК *SPHINX LIGUSTRI*

А.П. Статная, А.В. Череватов, Р.А. Волков

Черновицький національний університет імені
Юрія Федьковича,
Україна, 58012, г. Черновці, ул. Коцюбинського, 2
e-mail: ra.volkov@gmail.com

Цель. 5S рДНК относится к классу умеренно повторяющихся тандемно организованных последовательностей. Каждая повторяющаяся единица состоит из консервативной области, кодирующей 5S рРНК и изменчивого межгенного спейсера (МГС). Представления об организации и эволюции 5S рДНК у многих групп беспозвоночных животных, включая чешуекрылых, по-прежнему остаются ограниченными. Целью представленного исследования было описать молекулярную организацию 5S рДНК бражника сиреневого (*Sphinx ligustri*), который является представителем семейства Sphingidae. **Методы.** Повторяющиеся единицы 5S рДНК амплифицировали с по-

мощью ПЦР, клонировали в бактериальный вектор и секвенировали. **Результаты.** В геноме *S. ligustri* обнаружены два варианта повторяющихся единиц 5S рДНК, которые отличаются по длине. Оба варианта содержат кодирующий участок длиной 120 нп, но обладают МГС разных размеров, 75 и 123 нп, соответственно. Несмотря на низкое сходство последовательностей (62,7 %), длинный МГС вариант произошел от короткого в результате дупликации большей части МГС. Отсутствие существенного сходства последовательностей МГС различных видов бабочек показывает, что внешние элементы промотора, участвующие в инициации транскрипции 5S рДНК, не сохраняются в процессе эволюции в разных семействах чешуекрылых.

Ключевые слова: Sphingidae, Lepidoptera, 5S рДНК, молекулярная эволюция, организация промотора.

MOLECULAR ORGANIZATION AND EVOLUTION OF 5S RIBOSOMAL DNA OF *SPHINX LIGUSTRI*

A.P. Statna, O.V. Cherevatov, R.A. Volkov

Yurii Fedkovych University of Chernivtsy,
Kotsiubynski str. 2, 58012 Chernivtsi, Ukraine
e-mail: ra.volkov@gmail.com

Aims. 5SrDNA belongs to the class of moderately repeated sequences that are organized as tandem arrays. Each repeated unit is composed of a conservative 5S rRNA coding region and a rapidly evolving intergenic spacer (IGS). Information about organization and evolution of 5S rDNA in many groups of invertebrate animals including Lepidoptera still remains very obscure. The aim of the presented study was to describe molecular organization of 5S rDNA of Privet Hawk Moth (*Sphinx ligustri*), a representative of the family Sphingidae. **Methods.** 5S rDNA repeated units were amplified by PCR, cloned in a bacterial vector and sequenced. **Results.** Two length variants of 5S rDNA repeated units were detected in the genome of *Sphinx ligustri*. Both variants contain the 5S rRNA coding region of the same length of 120 bp, but possess IGS of different sizes, 75 and 123 bp, respectively. In spite of low sequence similarity (62.7%) the longer IGS variant originated from the shorter one by duplication of a major portion of IGS. A lack of remarkable sequence similarity between IGS of different butterfly species demonstrates that the external promoter elements involved in 5S rDNA transcription initiation are not conserved in different families of Lepidoptera.

Key words: Sphingidae, Lepidoptera, 5S rDNA, molecular evolution, promoter organization.