

**МУРАВЕНКО О.В.**

*Институт молекулярной биологии им.В.А.Энгельгардта Российской академии наук,  
Российская Федерация, 119991, Москв.,ул.Вавилова, 32, e-mail: omur@eimb.ru*

## **СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОМОВ У ВИДОВ ПЯТИ СЕКЦИЙ РОДА *LINUM* L. С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ХРОМОСОМНЫХ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ**

Как известно, структура хромосом в геноме является одним из важных видовых признаков, позволяющих определять его систематическое положение и филогенетические связи. Изучение хромосом у одной из наиболее известных технических сельскохозяйственных культур – льна и других дикорастущих видов рода *Linum* L. обнаружило, они имеют сходную морфологию (в основном метантрики) и их размеры колеблются от 1 мкм до 6 мкм (Ray, 1944). До сих пор имеются виды льнов у которых не определено даже число хромосом и для большинства видов остается актуальной проблема идентификации хромосом в геномах. Тем не менее, на основании монохромного окрашивания хромосом были построены предполагаемые филогенетические древа как для старосветских, так и для новосветских видов рода *LINUM*. Для старосветских видов льна в качестве исходного вида был принят лен австрийский - *L. austriacum* L., а для новосветских видов - лен многолетний (сибирский) *L. perenne* L. (Harris, 1968; Chennaveeraiah, Joshi, 1983). Генетическое родство геномов различных видов льнов изучали как классическим методом межвидовых скрещиваний и современными методами геномного анализа видов (RFLP, RAPD, SSR, ITS). (Лемеш и др., 2001; Fu Yong-Bi et al., 2002; Ambruster et al., 2006). На данном этапе исследование филогении рода по полиморфизму транскрибируемых межгенных спейсеров генов 45S РНК показало одновременную дивергенцию основных секций рода от общего предкового вида, что во многом подтвердило точку зрения ряда систематиков и генетиков (Кутузова и др., 1999; Светлова, 2007; Оньасюк, 2007).

### **Материалы и методы**

Изучены кариотипы у образцов видов *Linum usitatissimum* L. var. *usitatissimum* сорт Оршанский 2 (2n=30); *L. angustifolium* Huds. (2n=30); *L. bienne* Mill. (2n=30) полученных из ИГиЦ НАН Беларуси. Образцы видов, полученные из Генного банка Института генетики растений и исследования возделываемых растений г. Гетерслебена (Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany): *L. grandiflorum* Desf. (2n=16) accession number Lin 4/99, *L. decumbens* Desf. (2n=16) accession number Lin 1913/98, *L. austriacum* subsp. *austriacum* L. Lin 6/76, *L. austriacum* subsp. *euxinum* Juz. (Syn. *L. squamulosum* Rudolphi) Lin 1546, *L. leonii* F.W. Schultz Lin 1672/92, *L. perenne* L. Lin 1807/94, *L. lewisii* Pursh. Lin 1550/84, *L. komarovii* Juz. Lin 1716/92, *L. altaicum* Ledeb. Lin 1632/83, *L. mesostylum* Juz. Lin 1662/90, *L. pallescens* Bunge Lin 1645/01, *L. stelleroides* Planch Lin 1655/82, : *L. flavum* L. Lin 99/89, Lin 1633/83, *L. capitatum* Kit. ex Schultes Lin 1903/98, Lin 1549/78, Lin 1549/96, *L. campanulatum* L. Lin 1760/98, *L. thracicum* Degen Lin 1553/82, Lin 1764/89, *L. tauricum* Willd. Lin 1611/86, Lin 1604/80, *L. elegans* Sprun. ex Boiss. Lin 1652/88, *L. nodiflorum* L. LIN 1634, *L. hirsutum* L. subsp. *hirsutum* LIN 1649. В данном исследовании при указании деления видов по секциям мы придерживались систематики Юзепчука и Егоровой (Флоры СССР, 1949 и Флора Восточной Европы, 1996). Используемые в работе методы приготовления хромосомных препаратов, С-, DAPI-окрашивания, флуоресцентной гибридизации *in situ* с пробами рибосомных генов и теломерных последовательностей и хромосомного анализа подробно описаны ранее (Muravenko et al., 2003; Большева и др., 2005; Семенова и др., 2006).

### **Результаты и обсуждение**

Изучение рисунков распределения C/DAPI -бэндов по длине хромосом у всех видов показало, что в их кариотипах более крупные гетерохроматические блоки в большинстве хромосом расположены в прицентромерных районах хромосом, а средние и небольшие C-бэнды - преимущественно в теломерных и интеркалярных районах. Хромосомспецифичные рисунки C/DAPI - окрашивания позволили идентифицировать все пары гомологов в кариотипах изученных видов. Числа хромосом для *L. decumbens* (2n=16), *L. komarovii* (2n=18), *L. mesostylum* (2n=18), *L. stelleroides* (2n=18), *L. squamulosum* Rudolphi (2n=18) и *L. thracicum* Degen (2n=28+1-3B) определены впервые. В-хромосомы в кариотипах видов секции *Syllinum* с 2n =28 обнаружены и изучены также впервые.

### **Секция *Linum***

Исследование рисунков C/DAPI-окраски митотических хромосом показало, что геномы близкородственных видов *L. usitatissimum* L. (2n=30), *L. bienne* Mill. (2n=30) и *L. angustifolium* (Huds.) (2n=30) сходны по рисунку распределения C/DAPI-блоков, но у хромосом *L. angustifolium* размеры C/DAPI-бэндов больше. Сходство рисунков C-окраски у разных пар хромосом подтверждало данные о автотетраплоидном происхождении их генома (Cullis, 2005). Аналогичные рисунки C-окраски для всех восьми хромосом выявлены также в геномах у *L. grandiflorum* Desf. (2n=16) и *L. decumbens* Desf. (2n=16). У 16- и 30-хромосомных видов секции *LINUM* выявлен основной сайт совместной локализации рибосомных генов на спутничной хромосоме 1. Сайты 5S rDNA картированы на 3 парах хромосом у видов льна 2n=30 и на 1 паре у видов 2n=16. Сравнение результатов дифференциального окрашивания хромосом и расположения рибосомных генов позволило предположить перичентрическую инверсию в 3 хромосоме, захватывающую локус 5S рДНК, по которой различаются вид *L. angustifolium* и виды *L. usitatissimum* и *L. bienne*. Наши результаты все три вида рассматривают как отдельные (Юзенчук, 1949).

У вида *L. narbonense* L. (2n=28) было две пары ядрышкоорганизующих хромосом и четыре локуса 5S рДНК в отличие от других видов этой секции. По рисунку C-окраски и расположению рибосомных генов хромосомы были схожи не только с хромосомами видов секции *Linum*, но также с видами секции *Syllinum*., что подтверждает мнение систематиков, выделивших этот вид в отдельную секцию (Светлова, 2007, Онтасюк, 2007).

### **Секция *Adenolinum***

Все изученные виды этой секции (2n=18) были идентичны по основному рисунку распределения C-блоков по длине хромосом. У всех видов 26S и 5SpДНК локализуется в районе вторичной перетяжки SAT хромосомы 1, в проксимально-медианном районе другого плеча этой же хромосомы расположен крупный локус 5S рДНК. По рисунку C-окраски виды этой секции были очень схожи с видами секции *Linum*. Выявлена транслокация 1 и 3 хромосом между и дупликация хромосомы 8 по сравнению с 16-хромосомными видами секции.

### **Секция *Stellerolinum***

В эту секцию систематики выделили единственный вид *L. stelleroides* (2n=18), однако геном этого вида по рисунку C-окраски хромосом и расположению рибосомных генов был идентичен геномам видов секции *Adenolinum*.

### **Секция *Syllinum***

Впервые у этих видов льна были обнаружены В-хромосомы, что позволило уточнить основное число А хромосом в их кариотипах. Обнаружено, что кариотипы всех видов из этой секции имеют по 28 хромосом и еще 1-3 добавочные В-хромосомы. 26S и 5S рибосомные гены локализируются совместно на паре спутничных хромосом в середине короткого плеча и на В-хромосомах. Кроме того, сайты 5S рДНК расположены на 2 парах хромосом в проксимальном и дистальном положении.

У *L. nodiflorum* установлено 26 хромосом и В-хромосом не обнаружено. Спутничная хромосома несет 26S и 5S рДНК, локализованные вместе и отличается по морфологии от спутничной хромосомы видов секций *Linum* и *Adenolinum*. пара хромосом а 1 пара хромосом - 5S рДНК гены. По рисунку С-окраски хромосомы этого вида схожи не только с частью хромосом видов с  $2n=28$  из этой секции, но и с хромосомами вида *L. hirsutum* из секции *Dasylinum*. Результаты хромосомного анализа этого вида показывают, что он содержит геном, отличающийся от геномов других изученных видов льна, и подтверждает мнение систематиков, выделивших его в отдельную секцию *Tubelinum* (Светлова, 2007).

#### **Секция *Dasylinum***

У вида *L. hirsutum* в геноме восемь хромосом, размеры которых самые крупные из всех изученных видов. Рисунки С-бэндинга представлены центромерными, теломерными бэндами и небольшими интеркалярными бэндами. 26S и 5S рДНК локализована совместно на 2 парах спутничных хромосом, расположенных прителомерно и дистально. На медианном районе одной пары хромосом расположен небольшой сайт 5S рДНК. Этот вид по распределению С-бэндов и рибосомных генов также занимает особое положение, что подтверждает его помещение в секцию *Dasylinum*. Гибридизация с теломерными последовательностями ДНК обнаружила, что эволюция хромосом этого вида шла, по-видимому, не только за счет накопления повторов, но и за счет хромосомных слияний (Большеева и др., 2005).

#### **Выводы**

Результаты сравнительного анализа рисунков С/DAPI-окраски и распределения сайтов рибосомных генов у видов секции *Linum* и секции *Adenolinum*. позволили предположить, что все они произошли от общего 16-хромосомного предка, но в геноме 18-хромосомных видов произошла транслокация между хромосомами 1 и 3 с точками разрывов по границам районов 1L 1.3 и 3L 1.3 и дупликация хромосомы 8, а в геноме 30-хромосомных видов - автополиплоидизация с потерей или перестройкой одной из хромосомных пар в процессе видообразования. Сравнение геномов видов из всех изученных секций льнов позволило предположить, что предковая форма секций *Adenolinum*, *Stellerolinum* и *Linum*, а также секций *Dasylinum*, *Syllinum*, *Tubelinum* дивергировали от предка *Protolinum* одновременно, что согласуется с данными геномного анализа и данными систематиков.

Работа поддержана грантами РФФИ 08-08-00391 и 07-04-00268.

#### **Литература**

1. Большеева Н.Л., Семенова О.Ю., Муравенко О.В., Носкова И.В., Попов К.В., Зеленин А.В. Локализация теломерных последовательностей в хромосомах двух видов льна. // Биологические мембраны. 2005.- т. 22.- п. 3.- с. 227-231.
2. Кутузова С.Н., Гаврилюк И.П., Эгги Э.Э. Перспективы использования белковых маркеров в уточнении систематики и эволюции рода *Linum* // Труды по ботанике, генетике и селекции. 1999. Т. 156. С. 29-39.
3. Лемеш В.А., Малышев С.В., Грушецкая З.Е., Хотылева Л.В. Применение RAPD-анализа для определения таксономического статуса диких сородичей культурного льна. // ДНАН Беларуси. 2001. -Т.45. -N 3. -С. 88-90.
4. Оптасюк О.М. Род *Linum* во флоре Украины. Автореферат канд. дисс. Киев.-2007.- Институт ботаники НАНУ. -21с.
5. Светлова А.А. Род *Linum* L.: таксономия, география, эволюция. Автореферат канд. дисс. -Санкт-Петербург, 2007.-Институт ботаники им. Комарова. -26с.
6. Семенова О.Ю., Саматадзе Т.Е., Зеленин А.В., Муравенко О.В. Сравнительное изучение геномов видов льна секций *Adenolinum* и *Stellerolinum* с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). // Биологические мембраны. 2006.- т. 23.- п. 6.- с. 453 – 460.

7. Юзенчук С.В. Льновыє-*Linaceae* // Флора ССРСР Под ред. Шишкина Б.К., М. - Л.: Наука, 1949. -Т. 14. -С. 92-145.
8. Armbruster WS, Pérez-Barrales R, Arroyo J, Edwards ME, Vargas P. Three-dimensional reciprocity of floral morphs in wild flax (*Linum suffruticosum*): a new twist on heterostyly. // *New Phytol.* -2006.-vol.171.-n 3.-p. 581-90.
9. Chennaveeraiah M.S., Joshi K.K. Karyotypes in cultivated and wild species of *Linum* // *Cytologia.* 1983. vol. -48. -P. 833-841.
10. Cullis C.A. Mechanisms and control of rapid genomic changes in flax // *Annals Botany.* - 2005. -vol. -95. P. -201–206.
11. Harris B.D. Chromosome numbers and evolution in North American species of *Linum* // *Amer. J. Bot.* 1968. vol. 55.-n 10.- P.1197-1204.
12. Fu Yong-Bi, G.Peterson, A.Diederichsen, K.W.Richards RAPD analysis of genetic relationships of seven flax species in the genus *Linum* L. // *Genetic Resources and Crop Evolution.* 2002. -vol.49. -P.253-259.
13. O.V. Muravenko, A.V. Amosova, T.E. Samatadze, K. V. Popov, A.I. Poletaev, Zelenin A. V. 9-aminoacridin- an efficient reagent to improve human and plant chromosome banding patterns and to standardize chromosome image analysis. // *Cytometry.*- 2003. vol. 51.- p.52 – 57.
14. Ray C. Cytological studies on the flax genus (*Linum*) // *Amer. J. Bot.* 1944. V.31. P.241-248.

#### **Резюме.**

Сравнение хромосом видів льна секцій *Syllinum*, *Dasylinum*, *Adenolinum*, *Stellerolinum* и *Linum* показало, що види секцій *Adenolinum*, *Stellerolinum* и *Linum* мають спільний предковий геном, який дивергував одночасно (радіальна дивергенція) з геномами видів із секцій *Syllinum*, *Dasylinum*, *Adenolinum* від предкової форми *Protolinum*.

Chromosome comparison of species from sections *Syllinum*, *Dasylinum*, *Adenolinum*, *Stellerolinum* and *Linum* was shown that species from sections *Adenolinum*, *Stellerolinum* and *Linum* have common ancestor which simultaneously radiated with species of sections *Syllinum*, *Dasylinum*, *Adenolinum* from common progenitor *Protolinum*.

**НОВОХАЦЬКА О.В., ЦИБА Л.О., СКРИПКІНА І.Я., НІКОЛАЄНКО О.В.,  
ДЕРГАЙ О.В., РИНДИЧ А.В.**

*Інститут молекулярної біології та генетики НАН України*

*03143, м. Київ, вул. Заболотного, 150, e-mail: olga.novokhatska@gmail.com*

#### **ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ АДАПТОРНОГО БІЛКА ІНТЕРСЕКТИНУ 2 З БІЛКАМИ-ПАРТНЕРАМИ**

Інтерсектин 1 та 2 (ITSN1 та ITSN2) належать до еволюційно консервативної родини білків представлених у людини, гризунів, земноводних та риб. Обидва гени характеризуються подібною екзон-інтронною будовою, а білки, які вони кодуєть, мають однакову доменну структуру. У ссавців було виявлено дві основні ізоформи інтерсектину, які утворюються в результаті альтернативного сплайсингу: коротка ізоформа складається з двох ЕН-доменів, α-спірального регіону, п'яти SH3-доменів (А-Е); довга форма містить три додаткові С-кінцеві домени (DH, PH і C2) [1]. ITSN1 є адапторним білком, який взаємно локалізує та модулює активність білків задіяних в