

Молекулярно-цитогенетические маркеры на морфологические структуры хромосом луковых

Научный руководитель – Хрусталева Людмила Ивановна

Кузнеченко Алина Андреевна

Студент (бакалавр)

Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева,
Садоводства и ландшафтной архитектуры, Селекции и семеноводства садовых культур,
Москва, Россия

E-mail: alinadass@mail.ru

В настоящее время для изучения рекомбинации широкое применение нашел метод флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), однако луковые отличаются большой длиной хромосом, из-за чего визуальный анализ затруднен, особенно на ранних стадиях мейоза. Данную проблему может решить использование надежных цитогенетических маркеров на морфологические структуры хромосом.

Теломеры — участки повторяющихся последовательностей ДНК на концах хромосом, у лука состоят из повторов (CTCGGTTATGGG)_n [n1]. Субтеломерные повторы, расположенные в дистальных регионах хромосом, состоят из сателлитных повторов [n2]. Центромеры — участки повторяющихся последовательностей ДНК, организованные в tandemные повторы с вкраплением центромерных ретротранспозонов [n3]. Последовательности данных морфологических структур ранее были визуализированы на митотических хромосомах луковых. Визуализация на мейотических хромосомах, особенно в районе центромеры, может быть затруднена из-за большого числа рекомбинационных белков вблизи хромосом.

Нами было проведено FISH-картирование морфологических структур мейотических хромосом. Проба для FISH на теломеру была заказана (синтезированные олигонуклеотиды), для субтеломерного повтора и центромеры была выделена плазмидная ДНК с вставкой целевого повтора, которая была помечена методом ник-трансляции. Для центромеры также были опробованы два других метода: ПЦР плазмидной ДНК с мечеными нуклеотидами и ПЦР геномной ДНК с мечеными праймерами.

Цитогенетические маркеры были успешно применены для визуализации морфологических структур мейотических хромосом *A. cepa* и *A. fistulosum* и будут использованы в дальнейших исследованиях рекомбинации. В качестве маркера на центромеру лучший результат показала проба, приготовленная методом ПЦР с мечеными праймерами. Мечение методом ник-трансляции может быть ненадежно из-за большого количества неспецифичной меченой ДНК, ПЦР с мечеными нуклеотидами — из-за пониженной вероятности вставки меченого нуклеотида. Можно предположить, что недостатки этих методов вместе с труднодоступностью центромеры приводят к меньшему числу визуализированных центромер на одну клетку.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-76 10037, <https://rscf.ru/project/24-76-10037/>

Источники и литература

- 1) Fajkus, P. Allium telomeres unmasked: the unusual telomeric sequence (CTCGGTTATGGG)_n is synthesized by telomerase / P. Fajkus, V. Peska, Z. Sitova, J. Fulneckova, M. Dvorackova, R. Gogela, E. Sykorova, J. Napala, J. Fajkus // The Plant Journal. – 2015. – Vol. 85. – P. 337-347.

- 2) Kiseleva, A. V. Chromosomal organization of centromeric Ty3/gypsy retrotransposons in *Allium cepa* L. and *Allium fistulosum* L. / A. V. Kiseleva, I. V. Kirov, L. I. Khrustaleva // Plant genetics. – 2014. – Vol.50. –P. 586-592.
- 3) Sheikh Beig Goharrizi, M.A. et al. A new chromosome specific subtelomeric tandem repeat in *Allium Fistulosum* (L.) / M.A. Sheikh Beig Goharrizi, I.V. Kirov, L.I. Khrustaleva // Известия ТСХА. — 2016. — № 4. — С. 17-26.