

УДК 577.212.3:595.789

МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ 5S РИБОСОМНОЇ ДНК *Polyommatus icarus*

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

У геномі *Polyommatus icarus* (Lepidoptera: Lycaenidae) виявлено два варіанти повторів 5S рДНК. Ці варіанти суттєво відрізняються між собою за довжиною та нуклеотидною послідовністю міжгенних спейсерів (МГС), хоча окремі копії повторів рДНК, що належать до одного структурного варіанта майже ідентичні між собою в результаті концертної еволюції. МГС складається з мікросателітних повторів, що з'явилися на ранніх стадіях радіації лускокрилих. Протягом подальшої еволюції в МГС накопичувалися численні заміни та вставки/делеції нуклеотидів.

Ключові слова: *Lepidoptera*, 5S рДНК, молекулярна еволюція та таксономія.

Вступ. Повторювані послідовності є важливим компонентом геному еукаріотів. Однією із популярних моделей, яка використовується при вивченні закономірностей молекулярної еволюції помірно повторюваних послідовностей, є 5S рДНК, тобто ділянки, що кодують 5S рРНК. 5S рРНК є обов'язковим компонентом рибосоми. Відповідно, ділянки, що її кодують, присутні в геномах усіх клітинних організмів. 5S рДНК відноситься до класу тандемно організованих повторюваних послідовностей, що розташовуються у вигляді кластерів в одному або декількох хромосомних локусах. Кожна повторювана одиниця 5S рДНК складається із кодуючої ділянки та міжгенного спейсера (МГС). Організація 5S рДНК добре описана у рослин [1–3], де цю ділянку геному застосовують у молекулярній таксономії. Проте у безхребетних тварин, зокрема у комах, 5S рДНК все ще залишається практично не дослідженою. У метеликів (Lepidoptera) організація 5S рДНК була раніше вивчена лише для шовковичного шовкопряда (*Bombyx mori*) [4]. Попередні дослідження нашої лабораторії виявили суттєву мінливість 5S рДНК у представників різних родин Lepidoptera [5], що вказує на необхідність детальнішого вивчення організації та еволюції цієї ділянки геному у лускокрилих.

Родина Lycaenidae, до якої входить більш ніж 3500 видів, є однією із найбільших родин серед булавовусих лускокрилих. Рід *Polyommatus* охоплює сім підродів, які деякі автори розглядають як окремі роди. У Європі рід *Polyommatus* нараховує близько 42 видів [6], з яких більше 20 зустрічаються в Україні [7]. Для видів цього роду характерна висока фенотипічна мінливість, що робить їх цікавим об'єктом для вивчення процесів мікроеволюції. В останні десятиліття представників ряду інтенсивно досліджують, зокрема і на молекулярному рівні [8–10]. Рід *Polyommatus* може бути використаний як модель для вивчення закономірностей молекулярної еволюції окремих генів і мультигенних родин, виз-

начення філогенетичних зв'язків між видами. У представленій роботі наведено результати аналізу молекулярної організації 5S рДНК синявця ікара (*Polyommatus icarus* Rottemburg, 1775) та обговорюються можливі механізми молекулярної еволюції 5S рДНК лускокрилих.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження були метелики виду *P. icarus*. Загальну ДНК екстрагували з тіла метелика згідно зі стандартним протоколом з використанням як детергенту додецилсульфату натрію [11; 12].

Для ампліфікації повторюваної ділянки 5S рДНК методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) використовували пару праймерів RV0803 (5'-CATAGCGGCCGC-GTGGTCACTTGGATGGGTGA-3') та RV0804 (5'-CATTGC GGCCGCTTGCTTGACTTCGGTGATCGGA-3'), які було розроблено нами раніше [5], а також додатково розроблений нами праймер RV0901 (5'-CATGGCGGCCGCA-GCCTGGGAACACCGCGTGA-3'). Всі згадані праймери є комплементарними до різних частин ділянки, що кодує 5S рРНК 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 кодуючих ділянок, що межують із ним, за винятком частини кодуючої ділянки між 5'-кінцями використаних праймерів (рисунок). Згідно з розрахунками розмір фрагмента, який має залишатись неампліфікованим, становить 8пн для пари праймерів RV0803+RV0804 та 33 пн для пари праймерів RV0901+RV0804.

Кількість ДНК для проведення ПЛР складала 50 нг на реакцію. Ампліфікацію ДНК проводили в середовищі такого складу: 1× буфер для ПЛР (PCR-buffer, Qiagen,

США), $MgCl_2$ – 2 мМ, суміш dNTP – 0,2 мМ кожного, праймери – 1 мМ кожного, ДНК-полімераза (HotStartTaq, Qiagen) – 1 од. активності на реакцію. Загальний об'єм реакційної суміші складав 20 мкл. ПЛР проводили з використанням приладу MiniCycler (MJ Research Inc, США) за такою програмою: (1) початкова активація ДНК-полімерази – 95 °С, 15 хв; (2) денатурація ДНК – 94 °С, 45 с; (3) гібридизація праймерів – 55 °С, 1 хв.; (4) синтез ДНК – 72 °С, 2 хв; (5) закінчення ампліфікації – 72 °С, 8 хв; (6) припинення реакції – 4 °С. Загальна кількість циклів ампліфікації – 32. Для аналізу результатів ПЛР використовували електрофорез у 2% агарозному гелі.

Отримані ПЛР-продукти обробляли рестриктазою *Not* I та лігували по комплементарних липких кінцях у сайт *Eco*52 плазміди pLitmus 38 з використанням Т4 ДНК-лігази (Fermentas, Литва). Трансформацію компетентних клітин лінії *Escherichia coli* XL-blue проводили методом електропорації з використанням приладу *E. coli* Pulser (BioRad, США). Присутність вставки у складі рекомбінантних плазмід перевіряли методом *blue-white colony selection* та підтверджували рестриктазним картуванням. Плазміди виділяли методом лужного лізису [12]. Ферментативні реакції проводили згідно з рекомендаціями фірми-постачальника.

Вставки 5S рДНК відібраних клонів секвенували з використанням Big Due Terminator Cycle Sequencing Kit на сиквенаторі ABI Prism 310 (PE Applied Biosystems, США). Первинну обробку та аналіз отриманої первинної нуклеотидної послідовності проводили за допомогою комп'ютерної програми Chromas та пакету програм комп'ютерної обробки даних DNASTAR [13]. Пошук послідовностей у Genbank здійснювали за допомогою програми BLAST [14].

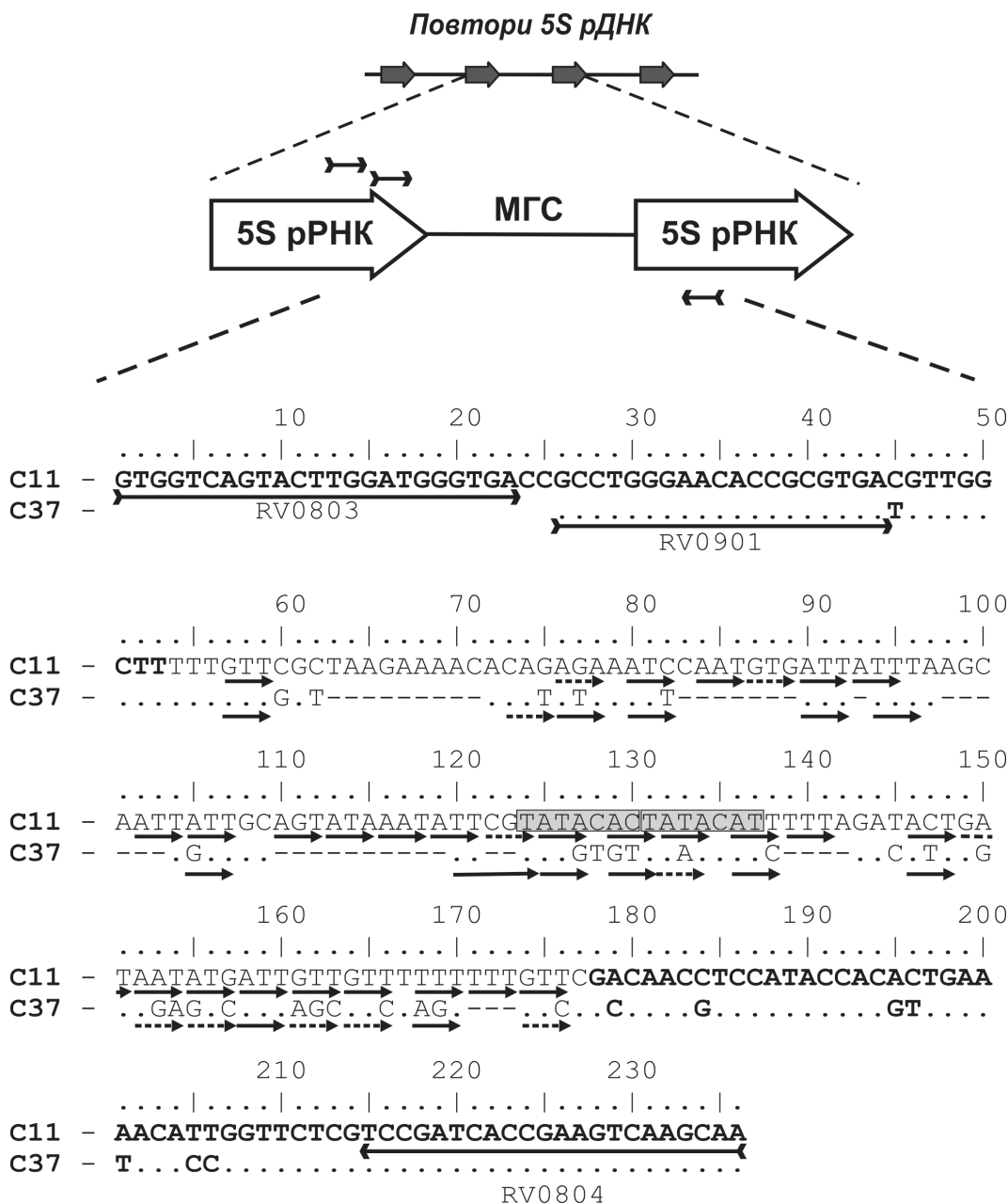


Рисунок. Порівняння первинної нуклеотидної послідовності клонів рMetr-C11 та -C37, що містять послідовності довгого та короткого варіантів 5S рДНК *Polyommatus icarus*. Жирним шрифтом виділено ділянку, що кодує 5S рРНК. Довгими стрілками позначено послідовність праймерів RV0803, RV0804 та RV0901, використаних для ПЛР. Короткими чорними стрілками вказано розташування у МГС мікросателітних повторів АТТ або мотивів, що відрізняються від них на одну нуклеотидну заміну. Короткими пунктирними стрілками зазначено локалізацію потенційних мікросателітних повторів, що містять по дві заміни нуклеотидів. Сірим прямокутником зазначено дуплікацію TATACAY

Результати та обговорення

Електрофоретичне розділення отриманих продуктів ПЛР показало, що ампліфікація повторюваної ділянки 5S рДНК *P. icarus* приводить до утворення двох фрагментів ДНК: основного – довжиною близько 250 пн та мінорного – близько 200 пн. Отриману суміш ПЛР-продуктів було клоновано у бактеріальний вектор без попередньої селекції за розміром.

За результатами скринінгу було ідентифіковано шістнадцять колоній трансформантів білого кольору, з яких було виділено плазмиди для подальшого картування. Обробка цих плазмід рестриктазою *Eco52* приводила до утворення двох фрагментів ДНК. Фрагмент більшої довжини у всіх плазмід мав розмір приблизно 2800–2900 пн, що відповідає розміру векторної плазмиди рLitmus 38, тоді як фрагмент меншої довжини, що відповідає вставці, мав різний розмір у різних клонів. Загалом було ідентифіковано п'ять плазмід зі вставкою довжиною близько 250 пн (довгі клони) та три плазмиди – довжиною 200 пн (короткі клони), що відповідає довжинам ПЛР-продуктів, які було використано для клонування. Для подальшого секвенування було відібрано три довгих (рPoic-C10, -C11, -C18) та два коротких клони (рPoic-C37, -C38).

Аналіз отриманих результатів показав, що вставки всіх досліджених плазмід містять на обох кінцях послідовності праймерів, використаних при проведенні ПЛР. За результатами секвенування три довгих клони – рPoic-C10, -C11, -C18 – містили вставку довжиною 248–249 пн, а два коротких – рPoic-C37, -C38 – 170 пн. Отже, у геномі *P. icarus* присутні як мінімум два варіанти повторів 5S рДНК, що відрізняються за розміром (рисунок).

Вирівнювання отриманих послідовностей показало, що рівень подібності між довгими клонами становить 99,6–100%.

При цьому послідовність клону рPoic-C11 виявилась ідентичною із консенсусною послідовністю, а клони рPoic-C10 та -C18 відрізнялися від неї однією делецією та транзицією, відповідно. Рівень подібності між двома сиквендованими короткими клонами становив 99,4%. Проте клони рPoic-C37, -C38 показали значно нижчий рівень подібності щодо до клонів рPoic-C10, -C11 та -C18: 74,7–75,9%. Ці результати свідчать, що у геномі *P. icarus* еволюція повторюваних ділянок 5S рДНК має концертний характер у межах кожного структурного варіанта, тоді як гомогенізації цих двох варіантів не відбувається.

Для визначення границь між кодуючою ділянкою та МГС отримані нами послідовності порівняли із послідовністю 5S рДНК шовкопряда *B. mori* (єдиного виду метеликів, для якого у базі даних Genbank наявна послідовність повного повтору 5S рДНК – реєстраційний номер L00335 [4]) та із послідовностями 5S рРНК *Philosamia cynthia* (K02354, X13039 [15, 16]) та *Antheraea pernyi* (X13035, X13036 [16]). Було встановлено, що вставки трьох секвендованих нами клонів (рPoic-C10, -C11, -C18) містять по краях фрагменти кодуючої ділянки розміром 53 пн (включаючи послідовність праймера RV0803) та 59 пн (включаючи послідовність праймера RV0804). Інші два клони містили з одного флангу кодуючу ділянку довжиною 28 пн (включаючи послідовність праймера RV0901), а з іншого – 59 пн (враховуючи 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 рРНК у *P. icarus*, становить 120 пн, що збігається із довжиною цієї ділянки у багатьох інших тварин [17–19].

Для оцінки ступеня мінливості кодуючої ділянки 5S рРНК було підраховано кількість замінів нуклеотидів, що відрізняють отримані нами клони *P. icarus* як між собою, так і від 5S рРНК інших видів метеликів. При розрахунках до уваги брали лише фрагменти кодуючої ділянки, які знаходилися за межами послідовностей праймерів, використаних для ПЛР. Було встановлено, що довгі клони рР0іс-С10 та -С11 є ідентичними між собою, а клон рР0іс-С18 відрізняється від них лише однією транзицією Т→С. Короткі клони рР0іс-С37 та -С38 в межах кодуючої ділянки виявились однаковими. В той же час вони відрізнялися на 6 замінів нуклеотидів (3 транзиції та 3 трансверсії) від довгих клонів. Для порівняння зазначимо, що послідовності 5S рРНК *Bombix mori* відрізняються між собою на 3–4 точкові заміни нуклеотидів. В цілому складається враження, що для метеликів притаманний внутрішньогеномний поліморфізм по послідовності кодуючої ділянки 5S рРНК.

Порівняння кодуючої ділянки 5S рРНК *P. icarus* та видів, що належать до різних родин Lepidoptera (табл. 1) показало, що короткий клон рР0іс-С37 є більш подібним до 5S рРНК *Antheraea pernyi*, *Philosamia cynthia* та *Bombix mori*, ніж довгий клон рР0іс-С11.

Добре відомо, що крім функціонально повноцінних повторів 5S рДНК у еукаріот можуть існувати так звані нефункціональні псевдогени, які часто знаходяться в іншому місці на хромосомах. Псевдогени, як правило, еволюціонують із більшою швид-

кістю, тобто демонструють підвищений темп накопичення нуклеотидних замінів та делецій. Зокрема, характерною є втрата фрагментів ділянки, що кодує 5S рРНК [17, 20, 21]. З іншого боку, як у тварин, так і у рослин, описані випадки наявності у геномі декількох функціонально активних класів 5S рДНК (*Xenopus*, *Arabidopsis*), які є транскрипційно активними на різних етапах онтогенезу [22–24]. Оскільки в усіх п'яти сиквенованих нами клонів не виявлено делецій у межах кодуючої ділянки, можна припустити, що обидва варіанти 5S рДНК, присутні в геномі *P. icarus*, – довгий (рР0іс-С10, -С11 та -С18) та короткий (клони рР0іс-С37 та -С38) – є функціонально активними, хоча для остаточного з'ясування цього питання необхідні додаткові експерименти.

Визначення границь кодуючої ділянки дозволило встановити, що довжина МГС для довгих клонів рР0іс-С10, -С11 та -С18 становить 123–125 пн. Це відповідає загальній довжині повторюваної одиниці 5S рДНК у 245 пн, що є близьким до довжини повтору 5SpрДНК деяких інших видів безхребетних тварин, яка знаходиться в межах 303–469 пн [19, 25]. Довжина МГС у коротких клонів рР0іс-С37, -С38 становить лише 83 пн (рисунок).

Застосування для вирівнювання послідовностей методу Clustal V (Gap penalty = 10; gap length penalty = 10 [13]) дозволило встановити, що в межах МГС рівень подібності між клонами рР0іс-С10, -С11 та -С18 становить 96,7–100%, між клонами рР0іс-С37, -С38 – 99,4%, а між трьома

Таблиця 1. Рівень подібності ділянки, що кодує 5S рРНК у видів родини Lepidoptera

	<i>Antheraea pernyi</i>	<i>Philosamia cynthia</i>	<i>Bombix mori</i>
<i>Polyommatus icarus</i>			
клон рР0іс-С11	5	6	7-9
клон рР0іс-С37	3	2	1-4

Примітка. Наведено кількість нуклеотидних замінів у двох фрагментах кодуючої ділянки загальним розміром 46 пн. Для розрахунків було використано послідовності клонів рР0іс-С11 та -С37. Для *B. mori* при порівнянні було використано шість послідовностей кодуючої ділянки, що наявні у Genbank.

довгими та двома короткими клонами в усіх випадках – 31,7%. Рівень подібності між п'ятьма сиквендованими нами клонами та МГС *Bombix mori* лежить в межах від 32,9% (С37, С38) до 39,5% (С10, С11, С18). В цілому ці результати підтримують існуючі уявлення про високу швидкість молекулярної еволюції МГС.

У наших попередніх дослідженнях 5S рДНК *Satyryus dryas* було встановлено, що МГС цього метелика містить так звані інсерційні елементи, які подібні до диспергованих послідовностей з геномів різних видів лускокрилих [26]. Для перевірки, чи послідовність МГС *P. icarus* також містить інсерційні елементи, ми провели її зіставлення із послідовностями, депонованими у Genbank. Проте, на відміну від *Satyryus dryas*, статистично достовірної подібності виявлено не було.

Аналіз отриманих нами послідовностей показує, що значна частина МГС як довгого, так і короткого варіантів 5S рДНК *P. icarus* складається з тандемно організованих тринуклеотидних мотивів АТТ та мотивів, які відрізняються від вказаного лише на одну (табл. 2) або на дві нуклеотидні заміни (САТ, ААА, GTC, АГА, АGC, GTG, CGT, GAT – рисунок). У поодиноких випадках періодична будова МГС порушується вставками або нестачею окремих нуклеотидів. Аналогічну структуру має й МГС *B. mori*, незважаючи на порівняно низький рівень подібності цієї ділянки з МГС *P. icarus*. Раніше було встановлено [27], що серед мікросателітних послідовностей у геномі *B. mori* найрозповсюдженішими є АТ-багаті мікросателіти, особливо тринуклеотидні послідовності АТТ, які також найчастіше зустрічаються у досліджених нами МГС 5S рДНК. Крім того, відомо, що мікросателітні послідовності частіше зустрічаються у спейсерних, ніж у кодуючих ділянках [28]. Раніше серед безхребетних тварин мікросателітні послідовності було знайдено у МГС 5SpДНК молюсків роду *Crassostrea* [29].

Таблиця 2. Розповсюдженість тринуклеотидних мотивів у МГС метеликів *P. icarus*

Тринуклеотидний мотив	Довгий варіант МГС (клон рPoic-C11)	Короткий варіант МГС (клон рPoic-C37)
АТТ	7	4
АТА	3	1
АТС	1	1
АТG	1	1
ААТ	3	–
АСТ	2	–
АGТ	1	1
СТТ	–	–
GТТ	4	3
ТТТ	3	1

Вважається, що новий мікросателіт виникає як результат випадкової дуплікації короткого (1-6 пн) мотиву у ДНК [30]. Це створює передумови для наступної ампліфікації цього мотиву внаслідок «прослизання нитки» під час реплікації (slippage of replication), що приводить до виникнення набору з декількох ідентичних копій тандемно організованих повторів. Подальшим кроком в еволюції мікросателітної ділянки є накопичення мутацій – вставок/делецій та заміни нуклеотидів. Аналіз отриманих нами послідовностей показує, що структура МГС 5S рДНК *P. icarus* цілком відповідає такій еволюційній моделі.

Цікаво зазначити, що, крім численних тринуклеотидних повторів, МГС довгого варіанта 5S рДНК *P. icarus* також містить тандемну дуплікацію більшого розміру – мотив ТАТАСАУ (рисунок). Це вказує на те, що вторинні дуплікації окремих частин МГС мали місце на порівняно пізніх етапах молекулярної еволюції, а саме – після накопичення мутацій у кластері АТТ-субповторів.

Висновки

Отримані нами результати свідчать, що значна частина МГС у *P. icarus* складається з мікросателітних повторів, які зазнали вторинних еволюційних перебудов. Можна припустити, що мікросателітні мотиви у

складі 5S рДНК з'явилися на ранніх етапах еволюції ряду Lepidoptera, на користь чого свідчить їхня присутність у МГС метеликів, що належать до різних родин. У подальшому вони еволюціонували незалежно як у різних таксономічних групах, так і в межах одного геному (короткий та довгий варіанти МГС). Це привело до виникнення значної мінливості у 5S рДНК метеликів – як за довжиною, так і за послідовністю МГС. В той же час концертна еволюція продовжувала підтримувати ідентичність окремих копій 5S рДНК, що належать до одного структурного класу.

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. 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.
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. Morton G., Sprague K. *In vitro* transcription of a silkworm 5S RNA gene requires an upstream signal // Genetics. – 1984. – Vol. 81. – P. 5519–5522.
5. Череватов О.В., Волков Р.А. Поліморфізм 5S рДНК комах ряду Lepidoptera // Біологічні системи. – 2009. – Т. 1. – С. 7–10.
6. Львовский А.Л., Моргун Д.В. Булавоусые чешуекрылые Восточной Европы. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2007. – 443 с.
7. Некрутенко Ю.П., Чиколовец В.М. Денні метелики України. – Київ: Видавництво Раєвського, 2005. – 232 с.
8. Sun S., Asling B., Faye I. Organization and expression of the immunoresponsive lysozyme gene in the giant silk moth, *Hyalophora cecropia* // J. Biol. Chem. – 1991. – Vol. 266, № 10. – P. 6644–6649.
9. Zimmerman M., Wahlberg N., Descimon H. Phylogeny of euphidriads checkerspot butterflies (Lepidoptera: *Nymphalidae*) based on mitochondrial DNA sequence data // Ann. Entomol. Soc. Am. – 2000. – Vol. 93, № 3. – P. 347–355.
10. Lukhtanov V.A., Vila R., Kandul N.P. Rearrangement of the *Agrodiaetus dolus* species group (Lepidoptera, Lycaenidae) using a new cytological approach and molecular data // Insect. Syst. Evol. – 2006. – Vol. 37. – P. 325–334.
11. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. Методы генетической инженерии – М.: Мир, 1984. – 479 с.
12. Панчук І.І., Волков Р.А. Практикум з молекулярної генетики. – Чернівці: Пуга, 2007. – 120 с.
13. DNASTAR, 1998. MegAlign 3.18 edit. Software distributed by DNASTAR Inc., Madison, WI, USA.
14. 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.
15. Xian-Rong G., Nicoghossian K., Cedergren R.J. 5S RNA sequence from the *Philosamia* silkworm: evidence for variable evolutionary rates in insect 5S RNA // Nucleic Acids Res. – 1982. – Vol. 10. – P. 5711–5716.
16. 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.
17. Suzuki H., Moriwaki K., Sakura S. Sequences and evolutionary analysis of mouse 5S rDNAs // Mol. Biol. Evol. – 1994. – Vol. 11. – P. 704–710.
18. Robles F., Herrán 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.
19. 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.
20. Little R.D., Braaten D.C. Genomic organization of human 5S rDNA and sequence of one tandem repeat // Genomics. – 1989. – Vol. 4. – P. 376–383.
21. Drouin G. Expressed retrotransposed 5S rRNA genes in the mouse and rat genomes // Genome. – 2000. – Vol. 43. – P. 213–215.
22. Ford S.A. Different sequences for 5S RNA in kidney cells and ovaries of *Xenopus laevis* // Nat. New Biol. – 1973. – Vol. 241. – P. 7–12.
23. Peterson R.C., Doering J.L., Brown D.D. Characterization of two *Xenopus* somatic 5S DNAs and one minor oocyte-specific 5S DNA // Cell. – 1980. – Vol. 20. – P. 131–141.
24. Douet J., Tourmente S. Transcription of the 5S rRNA heterochromatic genes is epigenetically controlled in *Arabidopsis thaliana* and *Xenopus laevis* // Heredity. – 2007. – Vol. 99. – P. 5–13.

25. 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.
26. Череватов О.В., Волков Р.А. Молекулярна організація 5S рДНК *Satyrus drias* (Lepidoptera) // Доповіді НАН України. – 2011. (У друці).
27. Prasad D., Muthulakshmi M., Madhu M. Archak S., Mita K., Nagaraju J. Survey and analysis of microsatellites in the silkworm, *Bombyx mori*: frequency, distribution, mutations, marker potential and their conservation in heterologous species // *Genetics*. – 2005. – Vol. 169. – P. 197–214.
28. Toth G., Gaspari Z., Jurka J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis // *Gen. Res.* – 2000. – Vol. 10. – P. 967–981.
29. Cross I., Rebordinos L. 5S rDNA and U2 snRNA are linked in the genome of *Crassostrea angulata* and *Crassostrea gigas* oysters: does the (CT)_n•(GA)_n microsatellite stabilize this novel linkage of large tandem arrays? // *Genome*. – 2005. – Vol. 48. – P. 1116–1119.
30. Zhu Y., Strassmann E., Queller D. Insertions, substitutions, and the origin of microsatellites // *Gen. Res.* – 2000. – Vol. 76. – P. 227–236.

Представлено В.А. Кунахом
Надійшла 4.10.2010

МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ 5S
РИБОСОМАЛЬНОЇ ДНК *POLYOMMATUS*
ICARUS

О.В. Череватов, Р.А. Волков

Черновицкий национальный университет имени
Юрия Федьковича,
Украина, 58012, г. Черновцы, ул. Коцюбинского, 2
e-mail: ra.volkov@gmail.com

В геноме *Polyommatus icarus* (Lepidoptera: Lycaenidae) обнаружено два варианта повторяющихся участков 5S рДНК. Оба варианта повторов существенно отличаются между собой

как по длине, так и по нуклеотидной последовательности межгенных спейсеров (МГС), хотя отдельные копии повторов рДНК, которые относятся к одному структурному варианту почти идентичны между собой, вероятно, как результат концертной эволюции. МГС состоит из микросателлитных повторов, которые возникли на ранних этапах радиации чешуекрылых. На протяжении дальнейшей эволюции в МГС накапливались многочисленные нуклеотидные замены, а также вставки/делеции нуклеотидов.

Ключевые слова: Lepidoptera, 5S рДНК, молекулярная эволюция и таксономия.

MOLECULAR ORGANIZATION OF 5S
RIBOSOMAL DNA OF *POLYOMMATUS*
ICARUS

O.V. Cherevatov, R.A. Volkov

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

In the genome of *Polyommatus icarus* two variants of 5S rDNA repeats were identified (Lepidoptera: Lycaenidae). These variants differ considerably by length and sequence of the intergenic spacer region (IGS) although individual copies of rDNA repeats of the same structural variant are nearly identical as a result of concerted evolution. The IGS is composed of microsatellite-related repeats that appeared at the early stages of Lepidoptera radiation. Numerous base substitutions and indels were accumulated in the IGS during subsequent evolution.

Key words: Lepidoptera, 5S rDNA, molecular evolution and taxonomy.