

УДК 631.523:577.21

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУБТЕЛОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА У *ALLIUM FISTULOSUM* L., *ALLIUM CEPA* L. И *ALLIUM WAKEGI* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВАС-FISH\*

А.В. КИСЕЛЕВА, И.В. КИРОВ, О.С. ПАВЛЕНКО, Д.В. РОМАНОВ, Л.И. ХРУСТАЛЕВА

(РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)

Геномы луковых до сих пор остаются слабо изученными в связи с их большим размером, высокой частотой дупликаций и повышенной гетерозиготностью. Создание ВАС (*bacterial artificial chromosome*) библиотек, несущих большие вставки геномной ДНК, и физическое картирование ВАС клонов на хромосомах значительно ускорят изучение геномов представителей рода *Allium*. Ранее нами была сконструирована ВАС библиотека *Allium fistulosum*. Особое внимание было уделено поиску ВАС клонов, несущих теломерные или субтеломерные последовательности ДНК, так как для луковых пока остается загадкой механизм поддержания стабильности хромосом и сохранения длин теломерных окончаний после каждого раунда репликации. Нами был проведен скрининг ВАС библиотеки с ДНК-зондом на общий для луковых субтеломерный повтор. В результате скрининга было выявлено 4 ВАС клона. Перекрестный дот-блот анализ ВАС библиотеки с *Cot-1* фракциями *A. cepa* и *A. fistulosum* выявил один ВАС клон 5.12.7 со слабой гомологией к *Cot-1* фракции *A. cepa*. Отобранные пять ВАС клонов были физически картированы на хромосомах с помощью флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) на трех видах луков (*A. fistulosum*, *A. cepa* и *A. wakegi*). Четыре клона, несущие общий субтеломерный повтор, локализовались в дистальных окончаниях хромосом у всех трех изучаемых видов. Концевое секвенирование этих ВАС клонов и биоинформатический анализ полученных сиквенсов выявили их высокую гомологию к общему для луковых субтеломерному повтору и GSS (*Genome Survey Sequence*) *A. cepa*. Причем у одного ВАС клона гомология к общему субтеломерному повтору была с обоих концов, а у трех ВАС клонов только с одного конца, а с другого к GSS *A. cepa*. Выравнивание полученных последовательностей ДНК с гомологией к GSS между собой не выявило у них общих последовательностей, что дает основание предположить их принадлежность к разным плечам/хромосомам.

FISH анализ ВАС клона 5.12.7 выявил ярко выраженные сигналы в субтеломерных регионах хромосом только на *A. fistulosum*. В результате FISH с ВАС клоном 5.12.7 на *A. wakegi*, который является естественным гибридом между *A. fistulosum* и *A. cepa*, были получены четкие сигналы на хромосомах *A. fistulosum* и слабые сигналы на хромосомах *A. cepa*. В FISH эксперименте на *A. wakegi*, в котором использовали в качестве блока ПЦП-продукт полученный с праймерами на общий субтеломерный повтор и геномной ДНК *A. cepa* и *A. fistulosum*, не было выявлено сигналов на хромосомах *A. cepa*. ВАС-FISH на *A. cepa* с использованием блок-ДНК на общий субтеломерный повтор также не выявил сигналов гибридизации. Это указывает на наличие в ВАС клоне 5.12.7 видоспецифичного повтора. Концевое секвениро-

\* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках реализации Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», мероприятие 1.2.1, соглашение № 8112 от 23 июля 2013 г.

вание этого ВАС клона выявило лишь гомологию к GSSA. *sepa*. Дальнейшее полное секвенирование ВАС клона 5.12.7 позволит определить видоспецифичный субтеломерный повтор у *A. fistulosum*.

*Ключевые слова:* *Allium fistulosum*, *A. sepa*, *A. wakegi*, ВАС библиотека, субтеломерный повтор, ВАС-FISH.

Несмотря на широкое использование луков в питании людей и фармацевтике, их геном до сих пор остается слабо изученным из-за целого ряда причин, в числе которых: большой размер, высокая частота дупликаций и повышенная гетерозиготность. Для изучения таких больших и сложных геномов используют геномные библиотеки на основе ВАС векторов, благодаря которым можно клонировать фрагменты ДНК до 300 тыс. пар нуклеотидов (п.н.). Японскими учеными недавно была создана ВАС библиотека лука репчатого (*Allium sepa* L.), покрывающая 30% генома. На сервере международного центра биотехнологической информации (NCBI) опубликовано более 5 млн нуклеотидных последовательностей, принадлежащих *A. sepa*, в то время как для лука батун (*Allium fistulosum* L.) известно лишь 746 последовательностей ДНК. Геном лука батун остается почти неизученным.

Лук батун является источником многих ценных генов, в частности, устойчивости к ряду фитопатогенов, которые могут быть использованы для обогащения генофонда лука репчатого. Размер генома лука батун на 28% меньше генома лука репчатого и составляет приблизительно  $12,5 \times 10^9$  п.н.

У *A. fistulosum* была обнаружена тандемно повторяющаяся сателлитная ДНК размером 378 п.н. [8], а ранее у *A. sepa* также был выделена сателлитная последовательность 375 п.н. [4]. У обоих видов повторы были локализованы в дистальных регионах хромосом. Также сателлитные последовательности были найдены и у других представителей рода *Allium*. Так FISH с 375 п.н. повтором *A. sepa* выявил сигналы в дистальных регионах хромосом у *A. vavilovii*, *A. fistulosum*, *A. galanthum*, *A. oschaninii*, *A. altaicum* [15].

Сравнение *A. fistulosum* сателлитного повтора с выявленным у *A. sepa* показало 82% гомологии [8]. Копийность *A. fistulosum* повтора примерно равняется  $2,8 \times 10^6$  на гаплоидный геном, что составляет 4,5% генома [8]. У *A. sepa* сателлитный повтор составляет 4% генома. Такие массивы тандемно повторяющейся ДНК организуют субтеломерный гетерохроматин у многих видов растений [11].

Субтеломерный гетерохроматин считается переходным регионом между теломерным повтором и наиболее дистальной хромосом-специфичной последовательностью. Роль субтеломерных регионов в стабильности и функционировании хромосом остается слабо изученной. Субтеломеры большинства организмов по большей части содержат нефункциональные повторяющиеся последовательности, и потеря субтеломеры не влияла на жизнеспособность клетки и стабильность хромосом [14]. Однако некоторые экспериментальные данные свидетельствуют о том, что укладка терминальной области теломер в более внутренний субтеломерный регион может способствовать кэпированию теломер [6, 7, 12].

Для луковых пока остается загадкой механизм поддержания стабильности хромосом и сохранения длин теломерных окончаний после каждого раунда репликации. У всех представителей рода *Allium* отсутствует Арабидопсис-типа теломерный повтор, характерный для большинства растений — ТТТАGGG [19]. У них также не был найден теломерный повтор позвоночных — ТТТАGG, обнаруженный у Аспа-

рагаловых, к которым принадлежит род *Allium*. У луков не найдена теломераза — фермент обеспечивающий достраивание теломер [19]. Поэтому возникает вопрос, как луковые сохраняют теломерные окончания хромосом от укорачивания. Была выдвинута гипотеза, что сателлитный повтор является одним из классов терминального повтора, выполняющего функцию теломеры, благодаря событиям неравного кроссинговера, происходящего в tandemных повторах [16]. В поддержку данной гипотезы говорит тот факт, что сателлитный повтор может формировать теломерное окончание хромосом и выполнять функцию теломеры, как это было найдено у *Chironomus pallidivittatus* [13].

В состав субтеломеры у некоторых видов входят также ретротранспозоны. Так, в терминальном гетерохроматине хромосом ячменя и эгилопса встречаются представители надсемейства *copia*- и *L1/A1*-ретротранспозоны [5]. А в субтеломере у видов *Triticaceae* найден *САСТА*- ДНК-транспозон *Caspar* [18, 20]. В субтеломерном гетерохроматине *A. fistulosum* обнаружено наличие ДНК последовательностей *Tv 1-copia* обратной транскриптазы [2].

Нами была ранее сконструирована ВАС библиотека геномной ДНК *A. fistulosum* и проведен ее скрининг с праймерами на субтеломерный повтор [1]. Были отобраны четыре ВАС клона, несущие субтеломерный повтор. Перекрестный дот-блот анализ ВАС библиотеки с *Cot-1* фракциями *A. cepa* и *A. fistulosum* выявил один клон со слабой гомологией к *Cot-1* фракции *A. cepa* [1].

В данной работе представлены результаты флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) ранее отобранных пяти ВАС клонов и их концевое секвенирование. ВАС-FISH продемонстрировала четкую локализацию сигналов гибридизации в дистальных окончаниях хромосом *A. fistulosum*. Четыре клона, несущие общий субтеломерный повтор, локализовались в дистальных окончаниях хромосом у всех трех изучаемых видов. ВАС клон 5.12.7, несущий видоспецифичный повтор, давал сигнал гибридизации только на хромосомах *A. fistulosum*. Концевое секвенирование этих ВАС клонов и биоинформатический анализ полученных секвенсов выявили высокую гомологию к общему субтеломерному повтору и GSS *A. cepa*.

## Материалы и методы исследования

### *Растительный материал и приготовление митотических препаратов хромосом*

Семена *A. cepa* ( $2n = 2x = 16$ ) сорта Халцедон и *A. fistulosum* сорта Русский зимний ( $2n = 2x = 16$ ) были выращены на влажной фильтровальной бумаге в течение 72 ч при 25 °С, затем перенесены последовательно в 0,75 тМ гидроксимочевину при 25 °С на 24 ч, на фильтровальную бумагу, смоченную водой при 25 °С на 4 ч и в 0,05% (w/v) колхицин при 25 °С в течение 3,5 ч. Молодые корешки *A. wakegi* были собраны у растений, выращенных в теплице в горшках, затем обработаны  $N_2O$  в камере под давлением 10 атмосфер в течение 3 ч. Фиксация корней проводилась в этанол : уксусной кислоте (3: 1) (v/v). Препараты хромосом готовили по описанной ранее методике распластывания [17].

### *Получение проб*

Отобранные 4 ВАС клона, несущие общий субтеломерный повтор, и ВАС клон с видоспецифичной повторяющейся последовательностью ДНК [1] были размножены в жидкой питательной среде LB (1% (w/v) триптон, 0,5% (w/v) дрожжевой экстракт, 0,5% (w/v) хлорид натрия) с добавлением антибиотика хлорамфеникола.

Плазмидная ДНК была выделена с помощью коммерческого набора реактивов «The GeneJET™ Plasmid Miniprep Kit» (Fermentas, США), согласно прилагаемому протоколу, и помечена с помощью DIG-Nick Translation Mix (Roche, Германия) согласно прилагаемой инструкции.

### *Получение блок-ДНК*

В качестве ДНК для блокирования общих для луковых нуклеотидных последовательностей был получен ПЦР продукт с праймерами на общий субтеломерный повтор и геномной ДНК *A. cepa* и *A. fistulosum*.

На основании данных о нуклеотидной последовательности сателлитного повтора лука батун [8] были сконструированы праймеры, фланкирующие отрезок длиной 378 п.н. [2]:

34902 5'-ATCGATTCTTCGGACGGCCT-3'

34903 5'-ATCCGCAGGGTGCAACATCTGCGG-3'.

Аmplификацию проводили на амплификаторе «Tetrad» (Biorad, США) при следующих параметрах: 94 °C — 5 мин; 30 циклов: 94 °C — 1 мин, 55 °C — 40 с, 72 °C — 2 мин 30 с.

### *Флуоресцентная in situ гибридизация (FISH)*

Предобработка и гибридизация стекол проводились по стандартной методике [11]. Гибридизационная смесь, содержала 50% (w/v) деионизированного формамида, 10% (w/v) декстран сульфата, 2xSSC, 0,1% (w/v) SDS, и 50 нг на стекло меченой пробы. Жесткость отмывки составила 80%.

Детекция гибридизованной пробы проводилась по стандартной методике [9]. Пробы, меченные дигоксигенином, были детектированы с помощью антител *anti-digoxigenin-fluorescein* (Roche, Германия).

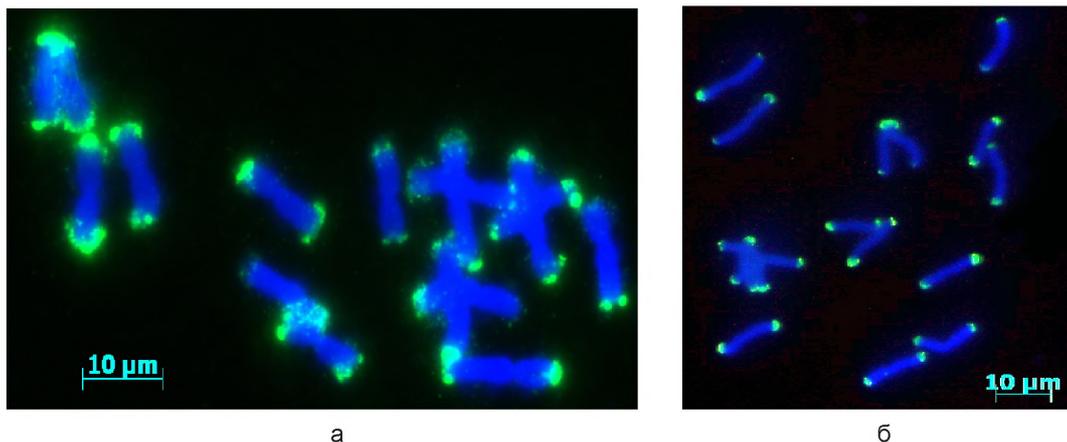
Анализ митотических препаратов хромосом проводился на флуоресцентном микроскопе AxioImager M1 (Zeiss, Германия) с использованием цифровой камеры AxioCam MRm. Снимки были оптимизированы с помощью функции контраста и яркости, используя программы AxioVision v.4.6 или Isis v.5.

## **Результаты и обсуждение**

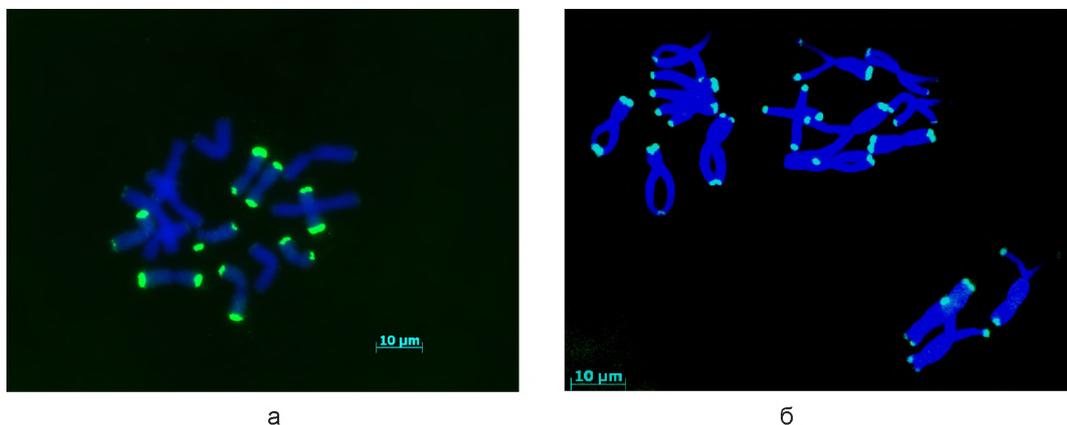
### *Скрининг ВАС клонов и концевое секвенирование*

Все полученные ВАС клоны были проанализированы с помощью ПЦР на наличие в них 378 п.н. субтеломерного повтора. В ходе нашей работы было обнаружено 4 ВАС клона несущих данную последовательность: 5.3.1, 5.3.6, 5.8.7, 7.11.7 с размером вставки в каждом клоне около 50 т.п.н. Отобранные ВАС клоны были проанализированы с помощью концевого секвенирования. ВАС клон 7.11.7 с обоих концов выявил гомологию к 378 п.н. субтеломерному повтору. Поэтому мы можем предположить, что вставка геномной ДНК этого клона была получена из участка генома, находящегося внутри данного сателлитного повтора. У трех других ВАС клонов только с одного конца выявлена гомология к 378 п.н. субтеломерному повтору, а с другого конца обнаружена гомология к GSS (Genome Survey Sequence) *A. cepa*. GSS представляют собой последовательности ДНК кодирующей части генов схожие с ESTs, но отличающиеся от последних своим геномным происхождением, а не из мРНК. Проведенный ранее FISH на растянутой ДНК и адаптер ПЦР с прямым клонированием теломерного конца показали, что сателлитный повтор занимает самый конец





**Рис. 2.** BAC-FISH клонов с субтеломерным повтором на хромосомах *A. fistulosum*: а — BAC 5.3.6, меченный 11dUTP-Digoxigenin; б — BAC 5.8.7, меченный 11dUTP-Digoxigenin

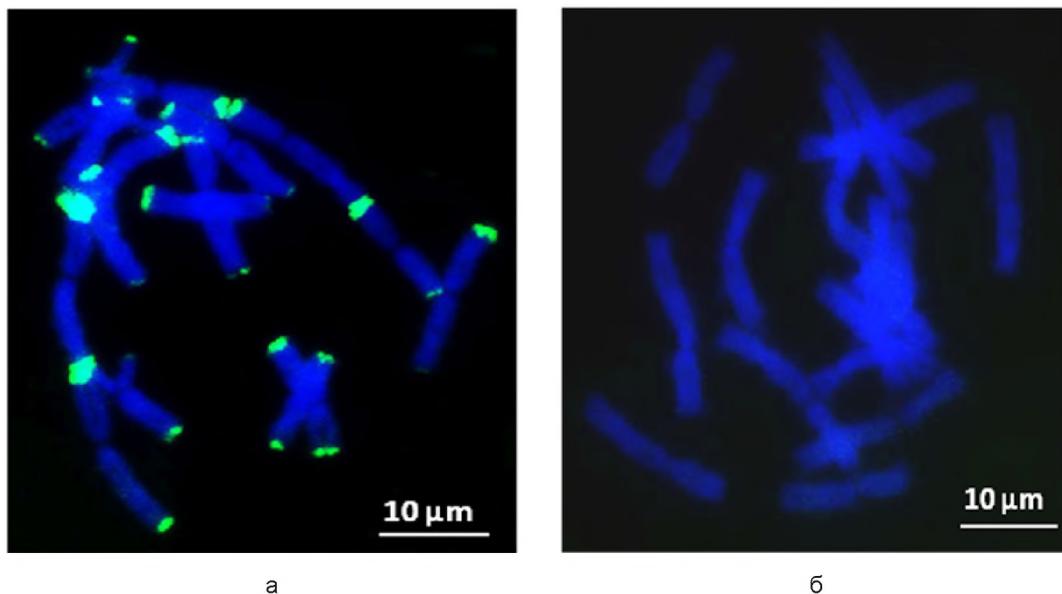


**Рис. 3.** BAC-FISH клон 5.12.7, меченного 11-dUTP-Digoxigenin: а — *A. fistulosum*; б — *A. wakegi*

принадлежащих *A. fistulosum*, чем у хромосом, принадлежащих *A. cepa*. Предположение о существовании у *A. fistulosum* видоспецифичного субтеломерного повтора было высказано ранее на основании результатов GISH анализа искусственных межвидовых гибридов между *A. fistulosum* и *A. cepa* [9].

Для проверки этих предположений был проведен FISH эксперимент на *A. fistulosum*, *A. cepa* и *A. wakegi* с меченой ДНК BAC клон 5.12.7 и немеченым ПЦР продуктом, полученным с праймерами на 378 п.н. субтеломерный повтор и с геномной ДНК *A. fistulosum* и *A. cepa*. Немеченный ПЦР продукт был использован в концентрации, превышающей в 50 раз концентрацию меченого BAC клон, для блокирования общего субтеломерного повтора.

В результате FISH на хромосомах *A. fistulosum* были выявлены гибридационные сигналы в субтеломерной области хромосом (рис. 4а). Однако на хромосомах *A. cepa* сигналов не было обнаружено (рис. 4б).



**Рис. 4.** BAC-FISH клона 5.12.7 меченного 11-dUTP-Digoxigenin с использованием ДНК блока — ПЦР-продукт с праймерами на субтеломерный повтор и геномной ДНК *A. fistulosum*; а — *A. fistulosum*; б — *A. cepa*

Это подтверждает наше предположение, о том, что в данном BAC клоне может содержаться видоспецифичный субтеломерный повтор. Концевое секвенирование этого клона (по 500 п.н. с обоих концов геномной вставки) показало 70% гомологии к GSS *A. cepa*. Возможно, что в оставшихся 49 тыс. п.н. неизвестных последовательностях BAC клона 5.12.7 находится видоспецифичный повтор. Полное секвенирование BAC клона 5.12.7 внесет ясность в дискуссию и позволит установить последовательность ДНК видоспецифичного повтора.

### Выводы

Скрининг BAC библиотеки с ДНК-зондом на общий для луковых субтеломерный повтор выявил 4 BAC клона, которые были проанализированы методом концевого секвенирования. Биоинформатический анализ сиквенсов показал у одного BAC клона гомологию к общему для луковых субтеломерному повтору с обоих концов, и у трех BAC клонов гомологию с одного конца к данной субтеломерной последовательности, а с другого к GSS *A. cepa*. Это позволяет судить о теломерно-центромерной ориентации ДНК вставок этих BAC клонов. Выравнивание полученных последовательностей ДНК с гомологией к GSS между собой не выявило у них общих последовательностей, что дает основание предположить их принадлежность к разным плечам/хромосомам.

BAC-FISH с клонами, несущими общий субтеломерный повтор, подтвердила их физическую локализацию в дистальных окончаниях хромосом. FISH с BAC клоном 5.12.7 на хромосомах *A. fistulosum*, *A. cepa* и *A. wakegi* выявила наличие видоспецифичного субтеломерного повтора у *A. fistulosum*.

## Библиографический список

1. Киселева А.В., Фесенко НА., Хрусталева Л.П. Создание геномной ВАС библиотеки *Allium fistulosum* L. для получения цитогенетических маркеров // Известия ТСХА. 2012. Вып. 6. С. 31-39.
2. Фесенко НА., Хрусталева Л.П., Карлов Г.П. Изучение организации сателлитного повтора 378 п.н. в терминальном гетерохроматине *Allium fistulosum* // Генетика. 2002. Т. 38. № 7. С. 894-903.
3. Хрусталева Л.П., Кал Л.Ю., Киров П.В., Сальникова А.А. Молекулярно-цитогенетический анализ естественных и синтетических гибридов *Allium fistulosum* × *A. cepa* // Известия ТСХА. 2010. Вып. 4. С. 12-21.
4. Barnes S. R., James A. M., Jamiesson G. The organization, nucleotide sequence, and chromosomal distribution of a satellite DNA from *Allium cepa* // Chromosoma. 1985. № 92. 185 p.
5. Belyayev A., Raskina O., Nevo E. Chromosomal distribution of reverse transcriptase-containing retroelements in two Triticeae species // Chromosome Res. 2001. V. 9. P. 129-136.
6. de Bruin D., Kantrow S.M., Liberatore R.A. and Zakian V.A. Telomere folding is required for the stable maintenance of telomere position effects in yeast // Mol. Cell. Biology. 2000. № 20. P. 7991-8000.
7. Grunstein M. Yeast heterochromatin: regulation of its assembly and inheritance by histones // Cell. 1998. № 93. P. 325-328.
8. Irifune K., Hirai K., Zheng J., Tanaka R., Morikawa H. Nucleotide sequences of a highly repeated DNA sequences and its chromosomal localization in *Allium fistulosum* // Theor. Appl. Genet. 1995. №90. 312 p.
9. Khrestaleva L.I. and Kik C. Cytogenetical studies in the bridge cross *Allium cepa* × *A. fistulosum* × *A. roylei* // Theor Appl Genet. 1998. № 96. P. 8-14.
10. Kuipers G. J., Van Os D. P. M., De Jong J. H., Ramanna M. S. Molecular cytogenetics of *Alstroemeria*: identification of parental genomes in interspecific hybrids and characterization of repetitive DNA families in constitutive heterochromatin // Chromosome Res. 1997. № 5. P. 31-39.
11. Kuo H.F., Olsen K.M., Richards E.J. Natural variation in a subtelomeric region of *Arabidopsis*: implications for the genomic dynamics of a chromosome end // Genetics. 2006. № 173(1). P. 401-417.
12. Lieb J.D., Liu X., Botstein D. and Brown P.O. Promoter-specific binding of Rap 1 revealed by genome-wide maps of protein-DNA association // Nat. Genet. 2001. № 28. P. 327-334.
13. Lopes C. C., Nielsen L., Edstrom J.-E. Terminal long tandem repeats in chromosomes from *Chironomus pallidivittatus* // Mol. Cell Biol. 1996. № 16. P. 3285.
14. Mefford, H. C. and Trask B. J. The complex structure and dynamic evolution of human subtelomeres // Nat. Rev. Genet. 2002. № 3. P. 91-102.
15. Pich ( Fritsch R., Shubert I. Closely related *Allium* species (Alliaceae) share a very similar satellite sequences // Plant Syst. Evol. 1996b. № 202. 255 p.
16. Pich ( Schubert! Terminal heterochromatin and alternative telomeric sequences in *Allium cepa* // Chromosome Res. 1998. № 6. 315 p.
17. Pijnacker L. P., Ferwerda M. A. Giemsa C-banding of potato chromosomes // Can J Genet Cytol. 1984. № 26. P. 415-419.
18. Sergeeva E.M., Salina E.A., Adonina I.G., Chalhoub B. Evolutionary analysis of the *CASTA* DNA-transposon *Caspar* across wheat species using sequence comparison and *in situ* hybridization // Mol. Genet. Genomics. 2010. V. 284. № 1. P. 11-23.
19. Svikorova E., Lint K.Y., Kunicka Z., Chase M. W., Bennett A.D., Fajkus J. And Leitch A.R. Telomere variability in the monocotyledonous plant order Asparagales // Proc. R. Soc. Lond. B Bio. 2003. 270. P. 1893-1904.
20. Wicker T., Taudien S., Houben A. et al. A whole-genome snapshot of 454 sequences exposes the composition of the barley genome and provides evidence for parallel evolution of genome size in wheat and barley // Plant J. 2009. V. 59. № 5. P. 712-722.

COMPARATIVE ANALYSIS OF SUBTELOMERIC HETEROCHROMATIN  
IN *ALLIUM FISTULOSUM* L., *ALLIUM CEPA* L.  
AND *ALLIUM WAKEGI* USING BAC-FISH

A.V. KISELEVA, I.V. KIROV, O.S. PAVLENKO, D.V. ROMANOV, L.I. KHRUSTALEVA

(RSAU-MAA named after K A. Timiryazev)

*Genomes of onions are poorly studied because of their large sizes, high frequency of duplications and increased heterozygosity. The creation of BAC (bacterial artificial chromosome) libraries with large inserts of genomic DNA and physical mapping of BAC clones on the chromosomes will significantly accelerate the studying of onion genomes. We constructed a BAC library of Allium fistulosum. Special attention was paid to the search in the BAC library of clones carrying telomeric and/or subtelomeric DNA sequences as for Allium the sequence of telomeric end and therefore mechanism for maintaining of chromosome stability and preservation of telomere lengths endings after each round of replication remains unknown. We carried out BAC library screening with DNA-probing in order to detect a common subtelomeric repeat for Allium species. Four BAC clones were identified. Cross dot blot analysis of BAC library with Cot-1 fractions of A. cepa and A. fistulosum identified one BAC clone 5.12.7 with weak homology to the Cot-1 fraction of A. cepa. The selected BAC clones were physically mapped by fluorescence in situ hybridization (FISH) on chromosomes of A. fistulosum, A. cepa and A. wakegi. Four clones that carry the common subtelomeric repeat, were localized in the distal end of chromosomes in all three species. End-sequencing of the BAC clones and bioinformatic analysis of the sequence data revealed their high homology to the common onion subtelomeric repeat and to the genome survey sequences (GSS) of A. cepa. One BAC clone revealed homology to the common subtelomeric repeat at both ends. Three BAC clones had homology from the one end to the common subtelomeric repeat and from the other to the GSS of A. cepa. Alignment of DNA sequences with the homology to the GSS to each other did not reveal common sequences, which gives ground for a suggestion that these BAC clones originated from different arms or chromosomes.*

*FISH analysis of BAC clone 5.12.7 revealed strong signals in the subtelomeric region only on chromosomes of A. fistulosum. FISH analysis of BAC clone 5.12.7 on A. wakegi, which is a natural hybrid between A. cepa and A. fistulosum, revealed strong signals on the chromosomes of A. fistulosum and weak signals on the chromosomes of A. cepa. Using the PCR product with primers on the common subtelomeric repeat and genomic DNA of A. cepa and A. fistulosum as a block-DNA in FISH probing with BAC clone 5.12.7 on A. wakegi, the signals were not observed on chromosomes of A. cepa. BAC-FISH on A. cepa with block-DNA on the common subtelomeric repeat also did not show any hybridization signals. This may point to the presence in BAC clone 5.12.7 species-specific subtelomeric repeat. End-sequencing of this clone revealed homology only to the GSS of A. cepa. Further whole sequencing of the BAC clone 5.12.7 will allow us to identify the species-specific subtelomeric repeat in A. fistulosum.*

*Key words: Allium fistulosum, A. cepa, A. wakegi, BAC library, subtelomeric repeat, BAC-FISH.*

Хрусталева Людмила Ивановна — д. б. н., главный научный сотрудник Центра молекулярной биотехнологии, проф. кафедры генетики и биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 5а; тел.: 8 (499) 977-70-01; e-mail: klirustaleva@timacad.ru).

Киров Илья Владимирович — аспирант кафедры генетики и биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: 8 (499) 977-70-01.

Павленко Ольга Сергеевна — студентка кафедры генетики и биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: 8 (499) 977-70-01.

Романов Дмитрий Викторович — к. б. н., лаборант-исследователь Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: 8 (499) 977-70-01.