

## ОЦІНКА СТАНУ ПРЕПАРАТІВ ДНК ЛЬОНУ ЗА ТРИВАЛОГО ТЕРМІНУ ЗБЕРІГАННЯ

**Верещагін Ігор Володимирович**кандидат сільськогосподарських наук, доцент  
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна  
ORCID: 0000-0002-6589-5138  
ihor\_vereschahin1986@ukr.net**Оничко Віктор Іванович**кандидат сільськогосподарських наук, доцент  
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна  
ORCID: 0000-0003-0584-319X  
onichko@gmail.com**Кандиба Наталія Миколаївна**кандидат сільськогосподарських наук, доцент  
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна  
ORCID: 0000-0001-6548-3670  
kandybanataliya@protonmail.com

Льон (*Linum usitatissimum* L.) є надзвичайно стародавньою прядивною культурою. Селекційна наука досягла значних результатів у створенні сортів прядивного льону з високим вмістом волокна у стеблах: 28–32%, а в окремих випадках навіть 36–43%. При цьому залишається велика кількість нерозв'язаних проблем у селекції льону, зокрема філогенез культури, генетичний контроль успадкування господарських та біологічних ознак, а також характер їх успадкування. Разом з цим виникає потреба у впровадженні в селекційну практику льону методів молекулярної біології, оскільки вони є універсальними, бо працюють на рівні нуклеїнових кислот (ДНК).

Сьогодні методи молекулярної біології активно впроваджуються в практику агрономічних досліджень і виконують різноманітні функції: ідентифікація ГМО та патогенних організмів, створення генетичних карт сільськогосподарських культур, маркерна селекція польових культур, секвенування геномів цінних сортів і видів з метою більш успішної селекції та багато інших.

Основною проблемою, якою супроводжуються молекулярні дослідження, є якість препаратів ДНК, котрі використовуються для проведення основного етапу молекулярних досліджень – полімеразної ланцюгової реакції або ПЛР. На якість препаратів ДНК впливає багато факторів, зокрема дотримання протоколу виділення нуклеїнових кислот, наявність компонентів буфера для виділення у препараті, кількість відмивань препарату, загальна чистота в лабораторії, а також тривалість та температура зберігання. Порушення правил зберігання ДНК призводить до руйнування або деградації молекули.

Існує довготривалий та короткочасний способи зберігання ДНК, які використовуються залежно від особливостей молекулярних досліджень. У статті розглядаються результати досліджень якості препаратів ДНК сортів льону Гладіатор та Есмань за довготривалого способу зберігання (90 діб), при температурі +4°C і -20°C в деіонізованій воді та ТЕ-буфері (TrisHCl EDTA). Було встановлено, що препарати ДНК здебільшого зберігають свою стабільність за тривалого способу зберігання, і, отже, можуть бути придатними для ПЛР.

**Ключові слова:** льон, сорт, зразок, препарат, ДНК, полімеразна ланцюгова реакція, деградація, деіонізована вода, ТЕ-буфер, довготривалий спосіб зберігання.

DOI <https://doi.org/10.32845/agrobio.2022.2.5>

**Вступ.** Льон (*Linum usitatissimum* L.) почав використовуватися людиною ще на початку цивілізації і навіть сьогодні залишається цікавим об'єктом для дослідження. У селекції льону-довгунця найбільш розв'язаною проблемою можна вважати створення високоволокнистих сортів завдяки надійним методам оцінки селекційного матеріалу на всіх етапах селекції. При цьому слід зазначити, що робота у даному напрямку виявилася надзвичайно успішною та результативною, оскільки вміст волокна у стеблах сучасних сортів складає 28–32%, а в окремих випадках досягає 36–43% (Lohinov et al., 2014; Soto-Cerda et al., 2013). Проте, його філогенез, а також генетичний контроль ознак та характер успадкування залишаються актуальним предметом вивчення.

Однією з найбільш актуальних проблем селекції льону-довгунця є створення сортів, які б поєднували високу

продуктивність із поліпшеною якістю волокна. Для отримання сортів з високим вмістом та якістю волокна, окрім знання особливостей успадкування даної ознаки, потрібні надійні та достовірні методи оцінки селекційного матеріалу на всіх етапах селекційного процесу (Guo et al., 2020).

Таким чином, перед селекцією льону постає ряд завдань, успішно вирішити які дозволяють методи молекулярної біології через свою універсальність. На сьогоднішній день молекулярна діагностика все активніше впроваджується в практику агрономічних досліджень і біотехнології, а перелік її застосування дуже широкий:

- створення генетично-модифікованих рослин, а також діагностика на ГМО;
- виявлення рослинних патогенів і створення стійких сортів;

- картування геномів сільськогосподарських культур;
- проведення діагностики сортової відповідності і надання референс-послуг замовникам;
- створення нових сортів шляхом маркерної селекції (MAS – marker assisted selection) – застосування молекулярних маркерів різних класів, що пов'язані з наявністю відповідних генів. Добір безпосередньо за маркерами значно підвищує ефективність селекції і дозволяє скоротити процес;
- виявлення расового складу бактеріальних та вірусних забруднювачів навколишнього середовища;
- секвенування геномів сільськогосподарських культур з метою визначення філогенетичних зв'язків та створення молекулярно-генетичних банків (Ceccherini et al., 2003; Nguyen-Hieu et al., 2012; Ivanova & Kuzmina, 2013; Rebecchi et al., 2009).

Однією з найбільших проблем, якою супроводжуються молекулярні дослідження, є якість препаратів ДНК, їх чистота та цілісність (Wang et al., 2007) (рис. 1.). На чистоту препаратів ДНК впливає дотримання протоколу виділення, наявність компонентів буферних розчинів для виділення та очищення нуклеїнової кислоти (вони зазвичай є інгібіторами полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) – основного етапу молекулярної діагностики), випадкова контамінація під час зберігання препарату, загальна чистота в лабораторії (Bitskinashvili et al., 2019; Xu et al., 2018; Miernyk et al., 2017; Kawane et al., 2014; Kohll et al., 2020). Недостатня чистота препарату ДНК, виділеного з клітини, може призвести до незадовільних результатів ПЛР, або взагалі унеможливить реакцію (Godard et al., 2003; Dong et al., 2020; Bauer et al., 2004; Menchhoff et al., 2022) (рис. 2).

При короткотривалому терміні зберігання заморожування препарату не застосовується. ДНК розчиняють в ТЕ-буфері (TrisHCl EDTA) або деіонізованій воді і зберігають у холодильнику при  $t + 4\text{ }^{\circ}\text{C}$  або навіть при кімнатній температурі (Hao et al., 2021; Tan et al., 2021; Somiari et al., 2011).

Метою наших досліджень було порівняти стан препаратів ДНК льону за тривалого періоду зберігання при  $-20$  та  $+ 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , приготованих з використанням ТЕ-буфера та деіонізованої води.

**Матеріали і методи досліджень.** Виділення геномної ДНК з рослинного матеріалу проводили за наступним протоколом. Насіння льону (сортів Гладіатор та Есмань) подрібнювали вручну товкачиком у порцеляновій ступці, після чого переносили 80 мг отриманого гомогенату до пробірок Ерпендорф об'ємом 1,5 мл. У кожену пробірку додавали 700  $\mu\text{l}$  лізуючого буфера (pH 8,1). Пробірки з сумішшю інкубували у твердотілому термостаті при  $t + 65\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 30 хв. Після інкубації пробірки центрифугували 10 хв. зі швидкістю 12000 об/хв. По завершенні центрифугування відбирали 300 – 400  $\mu\text{l}$  надосадової рідини (супернатанту) і переносили до чистих пробірок, додавали 5  $\mu\text{l}$  розчину протеїнази К (20 мкг/мл), а також 250  $\mu\text{l}$  розчину NaCl 6М. Отриману суміш перемішували, а потім центрифугували протягом 15 хв. зі швидкістю 12000 об/хв. Очищений супернатант переносили у чисті пробірки. Осадження ДНК проводили додаванням охолодженого етилового спирту (96% при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) з подальшим центрифугуванням протягом 15 хв. зі швидкістю 12000 об/хв. Відмивання отриманого осаду ДНК проводили з використанням етанолу (70%) та центрифугу-

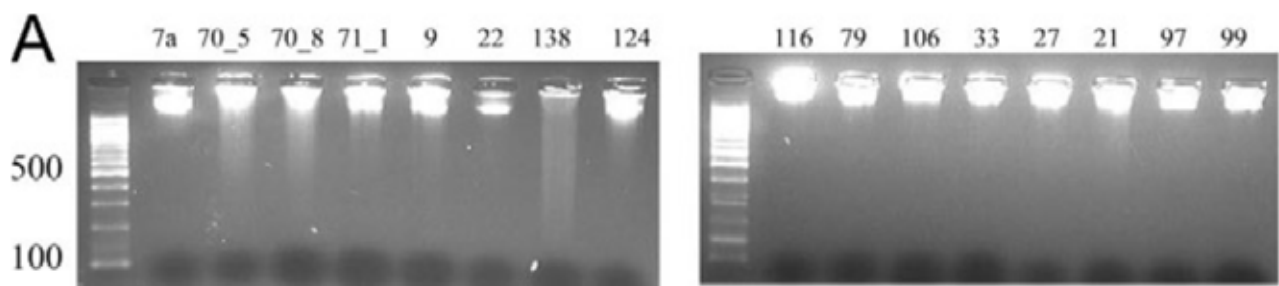


Рис. 1. Препарати ДНК у нормальному стані (за Wang F. et al., 2007)

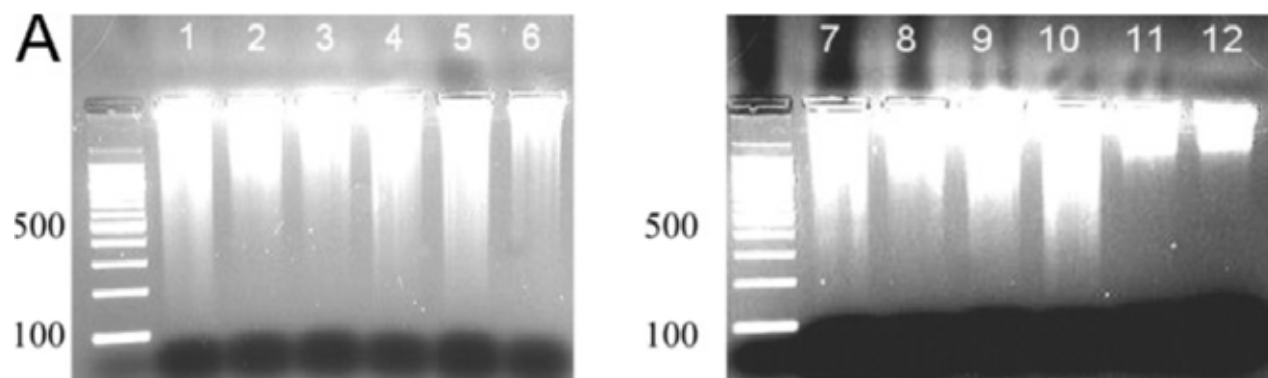


Рис. 2. Препарати ДНК різного ступеня деградації (за Wang F. et al.)

гуванням протягом 5 хв. зі швидкістю 12000 об/хв. Після видалення спирту препарат ДНК висушували у термостаті при  $t$  65 °С протягом 3 хв. і розчиняли у 100  $\mu$ л ТЕ-буфера (TrisHCl EDTA), рН 8,0 (перший зразок) і в такій же кількості деіонізованої води (другий зразок). Препарати ДНК зберігали протягом 90 діб у холодильнику при  $t$  -20 °С та +4 °С. Також дані розчини використовували для проведення 4 ПЛР (розморожували і заморожували 4 рази).

Візуалізацію ДНК проводили методом горизонтального електрофорезу у 1% агарозному гелі в присутності бромистого етидію за допомогою трансільюмінатора Bio-Rad UV Uviev Mini. В якості маркера молекулярної ваги використовували рUC19 DNA/Kzo9I. Маркер являє собою плазмідну, гідролізовану ферментом з утворенням 15 фрагментів та включає від 955 до 8 пар нуклеотидів.

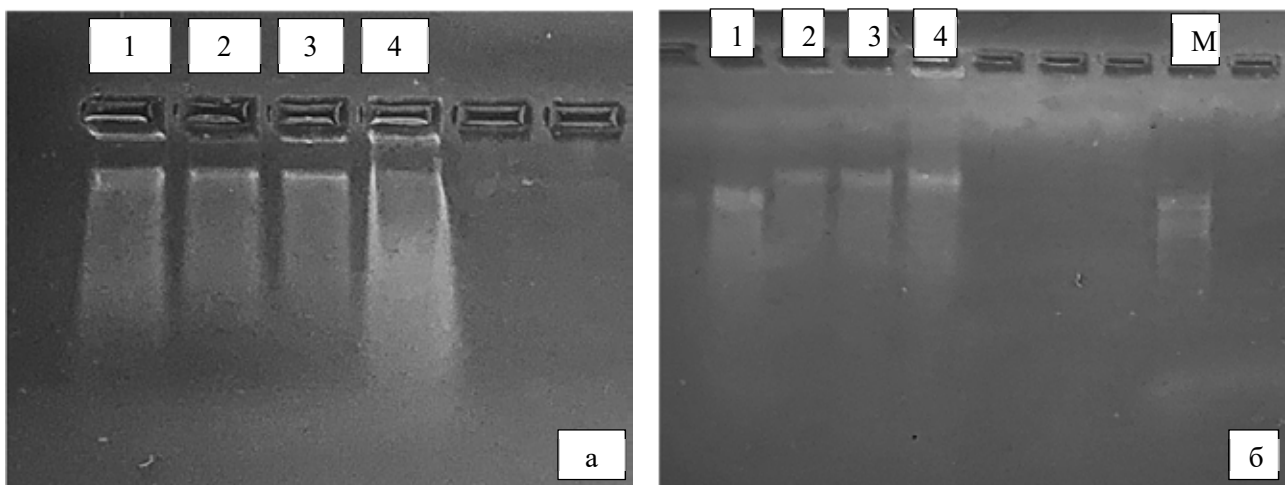
**Результати.** Зразки геномної ДНК сортів льону Гладіатор та Есмань, що зберігалися як в ТЕ-буфері, так і в деіонізованій воді при температурі +4 °С виявляють задовільний ступінь стабільності, окрім останнього зразка (сорт Есмань). Стан зразка у вигляді розмазаної плями вказує на початок деградації. Даний розчин ДНК виготовлено на основі деіонізованої води. Подальші маніпуляції з даним зразком неможливі і він абсолютно не підходить для ПЛР. Інші зразки знаходяться у задовільному стані; бенди (смужки) основних фрагментів ДНК достатньо добре видно. Такі зразки можна використовувати для проведення полімеразної ланцюгової реакції.

Розчини ДНК льону, як в ТЕ-буфері, так і в деіонізованій воді, котрі зберігалися в замороженому стані ( $t$  -20 °С), виявляють високий ступінь стабільності, про що свідчить стан бендів після процедури горизонтального електрофорезу в агарозному гелі. Смужки ДНК добре видно, вони не розмазані, що говорить про добру збереженість препаратів. У порівнянні з маркером молекулярної ваги не встановлено фрагментації молекул ДНК; основні фрагменти молекул складають 955 пар нуклеотидів або більше. Такі зразки цілком придатні для

проведення полімеразної ланцюгової реакції. Стан препаратів також дозволяє утримувати їх при низьких температурах ще протягом тривалого часу.

**Обговорення.** Молекула ДНК здатна пошкоджуватися у процесі виділення (хімічний лізис), зокрема під час струшування розчину на вортексі через гідророзриви ланцюга. Подібний зразок під час гель-електрофорезу утворює розмазані або фрагментарні смуги (бенди). Таким чином, отриманий розчин не можна використовувати для проведення ПЛР. Недотримання температурного режиму під час зберігання препаратів, а також часте розморожування-заморожування мають негативний вплив і призводять до деградації ДНК. До пошкоджень ДНК ще на підготовчому етапі може призвести, наприклад, пересушування рослинного зразка.

Отримані нами результати цілком підтверджуються дослідженнями інших авторів. Зокрема зазначається, що аліквоти геномної ДНК, що зберігалися при температурі -20 °С та -80 °С були стабільні протягом 24 місяців і витримували 19 циклів заморожування-розморожування, не виявляючи при цьому ознак деградації. Зразки ДНК, що зберігалися при температурі +4 °С, були стабільні протягом 12 місяців, а при кімнатній температурі деградували через 9 місяців. Але найшвидше деградація ДНК відбувалася за сухого способу зберігання (без буфера) при кімнатній температурі і складала три місяці (Wu et al., 2009). У роботі Saito&Doi (2021) було встановлено, що швидкість деградації молекули ДНК напряму залежить від температури води, в якій вона зберігається. Lee et al., (2012) зазначають, що ДНК добре зберігається в сухому вигляді (без розчинення в буфері), але для цього потрібна або низька позитивна (+4 °С), або взагалі негативна температура (від 20 до 80 °С). Smith & Morin (2005) вказують, що ДНК сильно деградує при +4 °С та навіть при -20°C, а при -80°C вона розпадається надзвичайно повільно. Однак автори зазначають, що швидкість деградації може залежати від характеру матеріалу, а також типу самої ДНК. Схожі результати були отримані й Soniat et al., (2021),



**Рис. 3.** Стан препаратів ДНК сортів льону Гладіатор та Есмань, що зберігалися за +4 °С (а) та -20 °С (б).  
1, 2 – ДНК сорту Гладіатор в ТЕ-буфері та деіонізованій воді відповідно;  
3, 4 – ДНК сорту Есмань в ТЕ-буфері та деіонізованій воді відповідно; М – маркер молекулярної маси

де досліджувалася проблема виділення ДНК з матеріалів тривалого зберігання. У дослідженнях Coudy et al., (2021) та Owens et al., (2005), присвячених проблемі довготривалого зберігання ДНК, зазначається, що молекули здатні витримувати кімнатну температуру (до 25 °C) протягом нетривалого періоду, однак потім деградує дуже швидко. Загалом, автори відзначають найкращу збереженість ДНК за низьких температур. Kim et al., (2011) у своїх дослідженнях ще більше деталізували вплив температури зберігання препаратів нуклеїнових кислот і буферів, які слугують розчинниками. Всі зразки, що зберігалися у дистильованій воді за кімнатної температури (+25 °C) деградували через 4 тижні, натомість препарати ДНК, розчинені в ТЕ-буфері виявляли стабільність за цієї ж температури. При зберіганні ДНК при температурі +4 °C

протягом 10 тижнів кількість деградованих зразків значно зменшилася, а зберігання препаратів при низьких температурах (-20...-70 °C) забезпечує їх від руйнування протягом тривалого часу. Загалом, автори рекомендують використовувати ТЕ-буфер для розчинення ДНК.

Таким чином, результати наших досліджень аналогічні результатам інших авторів, які проводили дослідження на інших об'єктах.

**Висновки.** Препарати ДНК сортів льону Гладіатор та Есмань за довготривалого терміну зберігання при різних температурах демонструють достатньо високу стабільність. Це стосується зразків, що зберігалися як в деіонізованій воді, так і ТЕ-буфері, проте найкраща збереженість ДНК відмічається за низьких температур і для цього краще використовувати ТЕ-буфер.

#### **Бібліографічні посилання:**

1. Bauer, T., Hammes, W. P., Haase, N. U. & Hertel, C. (2004). Effect of food components and processing parameters on DNA degradation in food. *Environmental Biosafety Research*, 3, 215–223.
2. Bitskinashvili, K., Gabriadze, I., Kutateladze, T., Vishnepolsky, B., Mikeladze, D. & Datukishvili, N. (2019). Influence of Heat Processing on DNA Degradation and PCR-Based Detection of Wild-Type and Transgenic Maize. *Journal of Food Quality*, 2019, 1–11. doi: 10.1155/2019/5657640
3. Bohn, P., Weisel, M. P., Wolfs, J. & Meier, M. A. R. (2022). Molecular data storage with zero synthetic effort and simple read-out. *Nature*, 12(12), 1–8. doi: 10.1038/s41598-022-18108-9
4. Ceccherini, M. T., Pote, J., Kay E., Van, V. T., Marechal, J., Pietramellara, G., Nannipieri, P., Vogel, T. M. & Simonet P. (2003). Degradation and Transformability of DNA from Transgenic Leaves. *Applied and environmental microbiology*, 69(1), 673–678. doi: 10.1128/AEM.69.1.673–678.2003
5. Coudy, D., Colotte, M., Luis, A., Tuffet, S. & Bonnet, J. (2021). Long term conservation of DNA at ambient temperature. Implications for DNA data storage. *PLoS ONE*, 16(11), 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0259868
6. Dong Y., Sun, F., Ping, Z., Ouyang, Q. & Qian, L. (2020). DNA storage: research landscape and future prospects. *National Science Review*, 7, 1092–1107.
7. Godard, B., Schmidtke, J., Cassiman, J.-J. & Ayme, S. (2003). Data storage and DNA banking for biomedical research: informed consent, confidentiality, quality issues, ownership, return of benefits. A professional perspective. *European Journal of Human Genetics*, 11(2), 89–122. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201114
8. Guo, D., Jiang, H., Yan, W., Yang, L., Ye, J., Wang, Y., Yan, Q., Chen, J., Gao, Y., Duan, L., Liu H. & Xie, L. (2020). Resequencing 200 Flax Cultivated Accessions Identifies Candidate Genes Related to Seed Size and Weight and Reveals Signatures of Artificial Selection. *Frontiers in Plant Science*, 1(10), 1–15. doi:10.3389/fpls.2019.01682.
9. Hao, Y., Li, Q., Fan, C. & Wang, F. (2021). Data Storage Based on DNA. *Small Structures*, 2, 1–13. doi: 10.1002/ssr.202000046
10. Ivanova, N. V. & Kuzmina, M. L. (2013). Protocols for dry DNA storage and shipment at room temperature. *Molecular Ecology Resources*, 13(5), 890–898 doi:10.1111/1755-0998.12134
11. Kawane, K., Motani, K. & Nagata, S. (2014). DNA Degradation and Its Defects. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 6, 1–15.
12. Kim, Y.-T., Choi, E.-H. Son, B.-K., Seo, E.-H., Lee, E.-K., Ryu, J.-K., Ha, G.-W., Kim, J.-S., Kwon, M.-R., Nam, J.-H., Kim, Y.-J. & Lee, K.-R. (2011). Effects of Storage Buffer and Temperature on the Integrity of Human DNA. *Korean Journal of Clinical Laboratory Science*, 44(1), 24–30.
13. Kohll, A. X., Antkowiak, P. L., Chen, W. D., Nguyen, B. H., Stark, W. J., Ceze, L., Strauss K. & Grass, R. N. (2020). Stabilizing synthetic DNA for long-term data storage with earth alkaline salts. *Chemical Communication*, 56, 3613 – 3616. doi: 10.1039/d0cc00222d
14. Lee, S. B., Clabaugh, K. C., Silva, B., Odigie, K. O., Coble, M. D., Loreille, O., Scheible, M., Fournay, R. M., Stevens, J., Carmody, G. R., Parsons, T. J., Pozder, A., Eisenberg, A. J., Budowle, B., Ahmad, T., Miller, R. W. & Crouse, C. A. (2012). Assessing a novel room temperature DNA storage medium for forensic biological samples. *Forensic Science International: Genetics*, 6, 31–40. doi: 10.1016/j.fsigen.2011.01.008
15. Lohinov, M.I., Rosnovskiy, M.H. & Lohinov, A.M. (2014). Seleksiia lonu-dovhuntsia: istorychni aspekty rozvytku. *Fakty eksperymentalnoi evoliutsii orhanizmiv*, 14, 236–240. (in Ukrainian)
16. Lozano-Peral, D., Rubio, L., Santos, I., Gaitán, M. J., Viguera, E. & Martín-de-las-Heras, S. (2021). DNA degradation in human teeth exposed to thermal stress. *Nature*, 11(12), 1 – 9. doi: 10.1038/s41598-021-91505-8
17. Menchhoff, S. I., Solomon, A. D., Cox, J. O., Hytinen, M. E., Miller, M. T. & Cruz, T. D. (2022). Effects of storage time on DNA profiling success from archived latent fingerprint samples using an optimized workflow. *Forensic Sciences Research*, 7(1), 61 – 68. doi: 10.1080/20961790.2020.1792079
18. Miernyk, K. M., DeByle, C. D. & Rudolph K. M. (2017). Evaluation of two matrices for long-term, ambient storage of bacterial DNA. *Biopreserv Biobank*, 15(6), 529–534. doi: 10.1089/bio.2017.0040.
19. Molinuevo, R., Freije, A., Contreras, L., Sanz, J. R. & Gandarillas, A. (2020). The DNA damage response links human squamous proliferation with differentiation. *Journal of Cell Biology*, 219(11), 1–19. doi: 10.1083/jcb.202001063

20. Nguyen-Hieu, T., Aboudharam, G. & Drancourt, M. (2012). Heat degradation of eukaryotic and bacterial DNA: an experimental model for paleomicrobiology. *BioMedCentral Research Notes*, 5(528), 1–6.
21. Owens, C. B., & Szalanski, A. L. (2005). Filter Paper for Preservation, Storage, and Distribution of Insect and Pathogen DNA Samples. *Journal Of Medical Entomology*, 42(4), 709–711.
22. Rebecchi, L., Cesari, M., Altiero, T., Frigieri, A. & Guidetti, R. (2009). Survival and DNA degradation in anhydrobiotic tardigrades. *The Journal of Experimental Biology*, 212, 4033–4039. doi:10.1242/jeb.033266
23. Saito, T. & Doi, H. (2021). A Model and Simulation of the Influence of Temperature and Amplicon Length on Environmental DNA Degradation Rates: A Meta-Analysis Approach. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 1–8. doi: 10.3389/fevo.2021.623831
24. Smith, S. & Morin, P. A. (2005). Optimal Storage Conditions for Highly Dilute DNA Samples: A Role for Trehalose as a Preserving Agent. *Journal of Forensic Sciences*, 50(5), 1–8.
25. Somiari, R. I., Adebijoyi, E., Ukachukwu, L., Mba, I. I., Anthony, F. A., Ogundele, A. O., Onuaha, I., Brainard, M., Lubber, S., Larson, C., Russell, S., Bharathan, N., & Somiari, S. B. (2011). STR Analysis of Human DNA Samples After Dry-State Ambient Temperature Storage in GenPlates. *The Open Forensic Science Journal*, 4, 30–35.
26. Soniat, T. J., Sihaloho, H. F., Stevens, R. D., Little, T. D., Phillips, C. D. & Bradley, R. D. (2021). Temporal-dependent effects of DNA degradation on frozen tissues archived at – 80°C. *Journal of Mammalogy*, 102(2), 375–383.
27. Soto-Cerda, B.J., Diederichsen, Axel., Ragupathy, R. & Cloutier, S. (2013). Genetic characterization of a core collection of flax (*Linum usitatissimum* L.) suitable for association mapping studies and evidence of divergent selection between fiber and linseed types. *BioMedCentral Plant Biology*, 13(78). 1–15.
28. Tan, X., Ge, L., Zhang, T. & Lu, Z. (2021). Preservation of DNA for data storage. *Russian Chemical Reviews*, 90(2), 280–291. doi: 10.1070/RCR4994
29. Villarrubia, C. W. N., Tumas, K. C., Chauhan, R., MacDonald, T., Dattelbaum, A. M., Omberg, K. & Gupta, G. (2022). Long-term stabilization of DNA at room temperature using a one-step microwave assisted process. *Emergent Materials*, 5, 307–314. doi: 10.1007/s42247-021-00208-3
30. Wang, F., Wang, L., Briggs, C., Sicinska, E., Gaston, S. M., Mamon, H., Kulke, M. H., Zamponi, R., Loda, M., Maher, E., Ogino, S., Fuchs, C. S., Li, J., Hader, C. & Makrigiorgos, G. M. (2007). DNA Degradation Test Predicts Success in Whole-Genome Amplification from Diverse Clinical Samples. *Journal of Molecular Diagnostics*, 9(4), 441 – 451. doi: 10.2353/jmoldx.2007.070004
31. Wu, J., Cunanan, J., Kim, L., Kulatunga, T., Huang, C. & Anekella, B. (2009). Stability of Genomic DNA at Various Storage Conditions. *SeraCare Life Sciences*, 1, 1–11.
32. Xu, Y., Ren, X. Y., Wang, H. B., Wang, M. & Li, G. H. (2018). Evaluation of DNA degradation and establishment of a degradation analysis model for Lepidoptera specimens. *BioTechniques*, 56(5), 138–147.

**Vereshchahin I. V.**, PhD (Agricultural Sciences), Associate Professor, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine  
**Onychko V. I.**, PhD (Agricultural Sciences), Associate Professor, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine  
**Kandyba N. M.**, PhD (Agricultural Sciences), Associate Professor, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine  
**Assessment of the condition of flax DNA preparations during long-term storage**

*Flax (Linum usitatissimum L.) is an extremely ancient spinning crop. Selection has achieved significant results in creating varieties of spinning flax with a high fiber content in stems: 28–32%, and in some cases even 36–43%. At the same time, there remains a large number of unsolved problems in flax breeding, in particular, the phylogeny of the culture, the genetic control of the inheritance of economic and biological traits, as well as the nature of their inheritance. At the same time, there is a need to introduce the methods of molecular biology into the selection practice of flax, as they are universal because they work at the level of nucleic acids (DNA).*

*Today, the methods of molecular biology are actively implemented in the practice of agronomic research and perform various functions: identification of GMOs and pathogenic organisms, creation of genetic maps of agricultural crops, marker selection of field crops, sequencing of genomes of valuable varieties and species for the purpose of more successful selection, and many others.*

*The main problem associated with molecular research is the quality of DNA preparations used for the main stage of molecular research – polymerase chain reaction or PCR. The quality of DNA preparations is affected by many factors, including adherence to the nucleic acid isolation protocol, the presence of isolation buffer components in the preparation, the number of washes of the preparation, the overall cleanliness of the laboratory, and the duration and temperature of storage. Violation of the rules of DNA storage leads to the destruction or degradation of the molecule.*

*There are long-term and short-term methods of DNA storage, which are used depending on the specifics of molecular research. The article examines the results of research into the quality of DNA preparations of Gladiator and Esman varieties of flax during long-term storage (90 days), at temperatures of +4 °C and -20 °C in deionized water and TE-buffer (TrisHCl EDTA). It has been found that DNA preparations mostly retain their stability under long-term storage and may therefore be suitable for PCR.*

**Key words:** flax, variety, sample, preparation, DNA, polymerase chain reaction, degradation, deionized water, TE-buffer, long-term storage method.