

ДӘНДІ ДАҚЫЛ СОРТТАРЫНЫҢ В-ГЛЮКАН СИНТЕЗИНЕ ЖАУАПТЫ ГЕНДЕРДІҢ СКРИНИНГІ

Исмагулова Г.А.¹, Байжуманова С.С.^{1*}, Исакова Г.А.¹, Байсапарова Д.О.¹, Мендеш А.М.¹, Түсіпова А.А.², Скиба Ю.А.^{1,3}, Мальцева Э.Р.^{1,3}, Найзабаева Д.А.^{1,3}, Есимбекова М.А.⁴, Мукин К.Б.⁴

¹ҚР ҒЖБМ М.А. Айтхожин атындағы молекулярлық биология және биохимия институты, Досмухамедова көш., 80, Алматы қ., 050012, Қазақстан;

²Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Әл-Фараби даң., 71, Алматы қ., 050040, Қазақстан;

³ҚР ДСМ «Ұлттық биотехнология орталығы» ЖШС Алматы филиалы, Жахангер көш. 14, Алматы қ., 050054, Қазақстан;

⁴ ҚазЕӨҒЗИ ЖШС, Алмалыбақ ауылы, Алматы обл., 040909, Қазақстан.

*jansaule_1986@mail.ru

АНДАТПА

Қазіргі уақытта β-глюканның адам өміріне маңыздылығы жоғары. Себебі қант диабеті, қатерлі ісік және ас қорыту бұзылысы сияқты көптеген созылмалы аурулардың қаупін азайтады. Осы қасиеттері арқасында β-глюкан көптеген созылмалы аурулардың алдын алу және емдеу үшін фармацевтикалық препараттарда қолдануға болатын табиғи зат болып табылады. Сондықтан β-глюкан көздеріне бай дәнді дақылдарына – бидайдың 100, арпаның 50 және сұлының 50 сорттарына талдау жүргізіліп, геномдық ДНҚ топтамасы жасалды. Әр сорт β-глюкан синтезіне жауап беретін гендерді анықтайтын скринингтен өтті. Зерттеу жұмыстарында 10 ген қарастырылды. Нәтижесінде бұл гендер арпа, бидай мен сұлы сорттарында бары айқындалды.

β-Глюканды бөліп алу үшін қышқылдық, микротолқынды және жоғары температурада қыздыру әдістерін қолдандық. Зерттеу барысында сұлы қауыздарынан β-глюканды бөліп алу әдісі жетілдірілді. Шыққан нәтижелерін салыстырғанда қышқылмен бөліп алу әдісі тиімдірек болды. Бұл әдіс арқылы таза β-глюканды алу оңай және кәдімгі қышқылдардан қарағанда лимон қышқылын қолдану зиянсыз, әрі қолжетімді болып табылады. Қышқылмен бөліп алу жетілдірілген әдісі 10 г бидай дәніндегі таза β-глюканның концентрациясы 66,6% екенін көрсетті және β-глюкан сығындысының жалпы шығымы 11,3% ға дейін өсті.

Түйін сөздер: β-глюкан, гендер, бидай, арпа, сұлы, скрининг, экстракция.

КІРІСПЕ

β-Глюкан – D-глюкозадан тұратын полисахарид және глюкоза молекулалары арасындағы байланыс түріне қарай екі түрлі құрылымға ие. Бұл дәнді дақылдарда болатын β-(1-3) және (1-4) байланысты β-глюкандар және ашытқы β-глюкандарға тән β-(1-3) және (1-6) байланыстары бар зең β-глюкандары [1]. β-Глюкан арпа, сұлы және бидай сияқты дәнді дақылдардан, сондай-ақ ашытқыдан (*Saccharomyces cerevisiae*), саңырауқұлақ ретінде зең мен кейбір бактериялардан алынуы мүмкін. Бета-глюкан адам денсаулығы үшін құнды болғандықтан, оны бөліп алуда жаңа әдістерін жасау және бұрыннан белгілі әдістерін модификациялау қазіргі уақытта үлкен маңызға ие. Сонымен қатар, азық-түлік өндірушілері β-глюканды көптеген азық-түлік өнімдеріне қосқан жөн деп есептейді [2, 3, 4].

β-Глюкандар – дәнді дақылдардағы тағамдық талшықтың ерімейтін негізгі компоненттері. Оның негізгі қасиеті жүрек-тамыр аурулары мен 2-ші типті қант диабеті қаупін азайту, ішек микрофлорасына пайдалы әсер ету және жалпы иммунитетті арттыру. Әдетте β-глюкан ашытқысы тағамдық қоспа ретінде пайдалану үшін қауіпсіз болып саналады. Сонымен қатар, әртүрлі көздерден алынған β-глюкандар холестеринді және липидтерді төмендететін тиімді қасиеттерге ие. Бүкіл әлем бойынша адам зерттеулері β-глюканның қандағы холестеринді және жоғары липидтер деңгейін төмендетудің қауіпсіз, әрі тиімді және арзан әдісі екенін көрсетті [5, 6, 7]. Қандағы липидтерді, жалпы холестеринді және төмен тығыздықтағы липопротеин (ТТЛ) холестеринді төмендету

– жоғары қан қысымы мен атеросклероздың алдын алудың ең жақсы жолы. Қауіпті жанама әсерлері бар қымбат дәрілердің орнына сұлы сүті, арпа немесе шырын сусындарына қосылатын β-глюкандардың ашытқы препараттары сияқты табиғи β-глюкан препараттарын қолдануға болады [8].

Осы қасиеттері арқасында β-глюкан көптеген созылмалы аурулардың алдын алу және емдеу үшін фармацевтикалық препараттарда қолдануға болатын табиғи зат болып табылады. Бета-глюканның халық денсаулығы үшін маңыздылығын ескере отырып, одан әрі пайдалы сапа белгісі ретінде пайдалану үшін оның құрамында жоғары арпа, сұлы және бидай сорттарын құру мәселесі туындады.

Бұл β-глюкандардың синтезі «целлюлоза синтаза тәрізді» (cellulose synthase-like) гендер ретінде белгіленген құрылымдық байланысқан гендердің 6 отбасымен реттеледі (*Cs/A*, *Cs/B*, *Cs/C*, *Cs/D*, *Cs/E* және *Cs/G*). *Cs/I* гендері целлюлоза синтаза/целлюлоза синтаза тәрізді (*CesA/CsI*) мультигендік отбасының қосалқы тобы болып табылады [9]. Жоғары өсімдік топтарында *CsI* тұқымдас тармақтары барлығы ұсынылмайды. *Cs/B* және *Cs/G* тұқымдас тармақтары тек қос жарнақтылар мен ашық тұқымдыларда, ал *Cs/F* және *Cs/H* топтары тек дара жарнақты өсімдіктерде кездеседі. Олар дәндегі де, өсімдіктің басқа бөліктеріндегі де β-глюкандардың мөлшері мен нәзік құрылымын тікелей немесе жанама түрде реттейді [10, 11].

Күріш дақылында (*Oryza sativa* L.) *CsI* гені 37 болса, ал арабидопсисте – 30 екені анықталды [12].

Осыған байланысты біздің жұмысымыздың мақсаты – бидай, сұлы және арпа сорттарында бета глюкан синтезінің гендерін анықтау және олардағы осы полисахаридтің мөлшерін анықтау.

МАТЕРИАЛДАР МЕН ӘДІСТЕР

Зерттеу материал ретінде – Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтының генофонды коллекциясынан бидайдың 100, арпаның 50 және сұлының 50 үлгісі алынды.

ДНҚ бөліп алу және ПТР.

Үлгілердің 14 күндік көшеттерінің жапырақтарынан Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific) жиынтығының көмегімен геномдық ДНҚ бөлініп алынды. [13]. Он праймерлердің көмегімен ДНҚ үлгілеріне ПТР жүргізілді (кесте 1). Мастер-микс қоспасының құрамы: 0,05 мкл Тақ полимеразысы, реакциялық буфер, 4 мМ MgCl₂, 0,4 мМ dNTP (dATP, dCTP, dGTP және dTTP) және мына программа бойынша амплификация жүргізілді: денатурация – 95°C 3 мин, 45 циклден қайталанатын – 95°C 1 сек, 55°C 1 сек, 72°C 30 сек және 80°C 15 сек. Шыққан өнімді 1xTAE буферерінде 1%-ті агарозды гелде электрофорез жасалынып, ДНҚ «жолақтарын» УК-сәуледе GelDok «BioRad» (АҚШ) көмегімен қаралды.

Қышқылмен бөліп алу әдісі.

Алдын ала ұсақталынған 10 г дән ұнтағына 1:4 (үлгі/этанол) қатынаста 80% этанол қосылып, 22-25°C температурада магнитті шейкерге 600 айн/мин. жылдамдықта 2 сағатқа араластырылады (рН 6.7). Содан кейін 1:7 қатынасында NaOH (1М) қосып, 45 °C температурада 250 айн/мин. жылдамдықта шейкерде қайтадан екі сағат бойы араластырылады (рН 12.8). Қоспаны 20°C температураға дейін салқындатып, 6000 айн/мин жылдамдықта 15 минут бойы центрифугада айналады. Тұнба үстіндегі пайда болған сұйықтықты бөліп алып, оны температурасы 27°C, жылдамдығы 6000 айн/мин 15 минут центрифугада қайта айналдырады. Тұнба үстіндегі сұйықтыққа рН 3,5 жеткенше 15%-тік лимон қышқылын 20°C температурада қосып отырады (лимон қышқылының фильтратқа қатынасы 1:1,1:3 болуы қажет). Қоспаны 4°C температураға дейін салқындатып, 15000 айн/мин жылдамдықта 16,8°C температурада 30 минут ішінде центрифугаланып, супернатант бөлініп алынады (рН 3,6). Супернатантқа 1:2 қатынаста 80% этанол қосылады (рН 4,5). Ерітіндіні 4°C температурада 15 минутқа қалдырып, кейін 6000 айн/мин жылдамдықта 15 минут центрифугадан өткізіп, тұнба бөліп алынады. Петри табақшасына енгізіліп, экстракт өлшенеді. Гранулаларды ыстық ауалы кептіргіш шкафта 42°C температурада толық кепкенінше, түсі аздап күңгірт түске боялғанша қойылады. Бұл 15-тен 16 сағатқа дейін созылады. Кейін оны құрғақ шыныда сақтайды [13, 14].

Микротолқынмен бөліп алу әдісі.

Микротолқынды бөліп алу әдісінің бір ерекшелігі – пайдаланылатын дәнді дақылдардың шикі және кептірілген түрлері пайдаланылады. Яғни, ерітіндіні тоназытқышта сақтағаннан кейін, кептірмес бұрын массасын өлшеп алу қажет. Олардың массасының көмегімен β-глюканның концентрациясын өлшеуге болады.

Алдын ала ұсақталған 10 г дән ұнтағын 200 мл колбаға салып, 150 мл дистилденген сумен араластырылды. Содан кейін оны микротолқынды пеште (МГЦ магнетроны бар WP700TL 23-K5 (Glanz Group Co., Ltd., Гуандун, Қытай)) қыздыру арқылы сәулелендіріледі. Алынған экстракцияны 25°C дейін салқындатады. Барлық процесс атмосфералық қысыммен жұмыс істелінеді [14, 15].

Жоғары температурада қыздыру әдісі.

Жоғары температурада қыздыру әдісінде 10 г дөңге 150 мл дистилденген су қосып, 100°C 2 сағат рефлюкс жасалады. Содан кейін қоспаны сүзгі қағазы арқылы сүзіп алады [16].

Спектрофотометр көмегімен β-глюканның сандық өлшенуі.

Сығындыны 25-30 °C температурада 700 айн/мин магниттік араластырғышпен суда ерітеді. 5·(10)⁽⁻⁵⁾ г/мл концентрациясында еріту шамамен 2 сағатты алады. Реагент

Кесте 1 – β-Глюканды анықтауға арналған праймерлер тізбегі

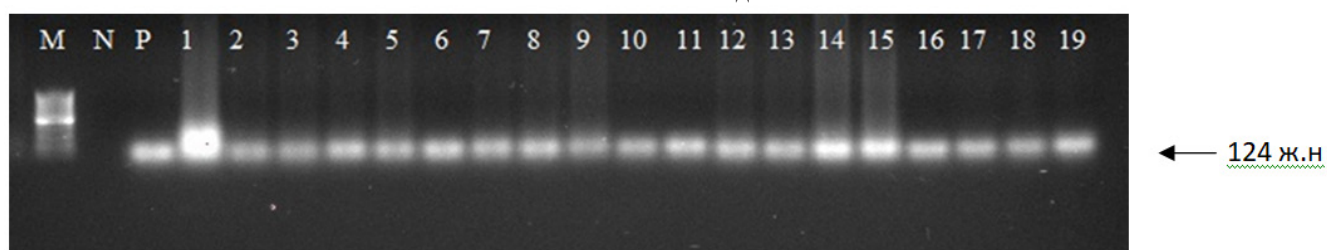
Материал	Ген	Праймер реттілігі
Арпа, бидай	<i>HvCslF3</i>	CTTGTTGCCGGTTGCCTTTACA TCAATTGGCTAAAATGGAAGAAACTA
	<i>HvCslF4</i>	CCGTCGGGCTCGTGATGTC TTGCAGTGACTCTGGCTGTACTTG
	<i>HvCslF6</i>	TGGGCATTACCTTCGTCAT TGTCCGGGCAAATCATCAA
	<i>HvCslF7</i>	CCCTGCTCTTGCTTGTCTGCTAG TAGCCAAGCAATTCATTT
	<i>HvCslF8</i>	GCGTGGATTCTGGTGCTGATCTA CCACCAATGCGATCAAATAAAC
	<i>HvCslF9</i>	CTGCCACCGCGTCCGTGTA AGGTTTTGCAGCACTACTTGA
	<i>HvCslF10</i>	GGCTATTGTTCAACCTGTGGATTA TGGCCAAGAAAGCAATGGGTAGT
Сұлы	<i>CslF6-global</i>	TSACGCTACTGCTCCATCTA AAGAGCGGGTTGTTCTTGG
	<i>CslF6-AA</i>	GCTCATCAAGGTGATATCCAA GATCATCAGCGGTGTCCAT
	<i>CslF6-CC</i>	CATCTTCTTCGACGGCTCC TACTTGGTCTTGGCGAACAAT

дайындалады (суық 86% күкірт қышқылы, әр 1 мл құрамында 0,35 мг L-цистеин бар). Күкірт қышқылы салқындаған кезде цистеин қосып, күкірт қышқылында жақсы еру үшін араластырғышқа 250 айн/мин 30 минутқа қалдырады. Оларды ұзақ уақытқа қалдырмайды, әсіресе жылы температурада, өйткені олар бір-бірімен әрекеттеседі, сары түс береді және жалған нәтиже болуы мүмкін. Содан кейін әр 400 мкл ерітілген сығындыға 2 мл реагент қосады. Оларды тікелей қайнаған суға 3 минутқа салады. Спектрофотометрді 415 нм диапазонында оқып, абсорбцияны (сіңіру) тіркемес бұрын, салқындату үшін бөлме температурасында 40 минутқа қалдырылады. Сығындыдағы глюкоза концентрациясын анықтау үшін сіңіруді стандартты глюкоза қисығымен салыстырады және β-глюкан мен глюкозаның молекулалық массасын біле отырып, сығындыдағы β-глюканның пайызы анықталады [16,17].

ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

Бидайдың, арпаның және сұлының сорттарына талдау жүргізіліп, геномдық ДНҚ топтамасы жасалды. Әр сорт β-глюкан синтезіне жауап беретін гендерді анықтайтын скринингтен өтті. Сұлының 50 үлгілеріне *CsIF6-global*, *CsIF6-AA* және *CsIF6-CC* гендеріне скрининг жүргізу барысында алынған нәтижелерді 2-ші кестеден көруге болады. Соның ішіндегі сұлының 19 сорт үлгілеріне жүргізілген ПТР нәтижесінде, электрофореграммада көрініп тұрғандай, ДНҚ құрамында *CsIF6-AA* гені бары анықталды (сурет 1). Бұл геннің салмағы 124 ж.н. құрайды.

Бұл суретте оң бақылаудың арқасында *CsIF6-AA* гені барлық үлгілерде бар екені көрінеді. Теріс бақылауды қолдана отырып, бұл ПТР реакциясының таза өткендігін көрсетеді.



Сурет 1 – ПТР өнімдерінің *CsIF6-AA* локусының электрофоретикалық бөлінуінің нәтижесі: М – маркер (100 ж.н.), Р – оң бақылау, N – теріс бақылау.

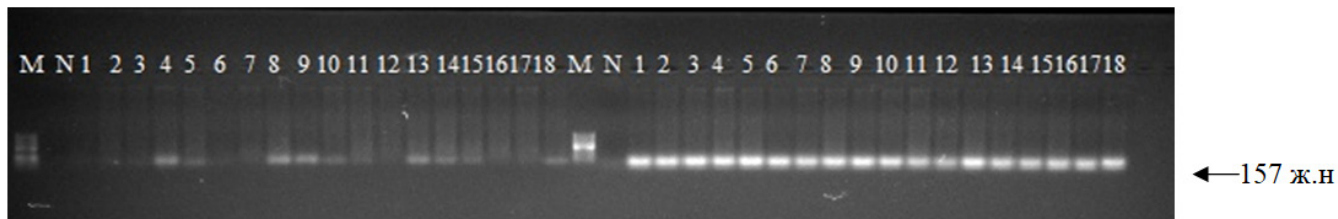
Кесте 2 – Сұлы сорттарына β-глюкан синтезіне жауапты гендерінің скринингі және β-глюкан концентрациясы

Сұлы сорттары	<i>CsIF6-global</i>	<i>CsIF6-AA</i>	<i>CsIF6-CC</i>	β-глюкан концентрациясы, %
Анастасия, Тарский 9, Козырь	+	+	+	72,1
Памяти им. Богачева, Орион	+	+	+	67,2
Львовский 82, Асиллак	+	+	+	70,5
Саян, Алтайский крупнозерный, Улов	+	+	+	66,2
Покровский 9, Амурский утес	-	-	+	68,1
Местный, Анчар, Галоп	+	-	+	71,0
Ровесник, Факир, Универсал1	+	+	+	65,5
Фобос, Тогурчанин, Аллюр	+	+	-	67,1
Экспресс, Чиж, Теремок, Валлин 765	+	+	+	66,3
ГЭСЭР, Аргамак, Юбиляр	-	-	+	69,1
Тарский 2, Иртыш 21, Фауст	+	+	+	71,1
Тулунский19, Тюменский голозерный, Овен	+	+	+	65,3
Борец, Тигровый	+	+	+	85,1
Мезмай, Верный	+	+	+	66,5
Гузерибль, Гунтер	+	-	+	69,1
Кемеровский 90, Стригунок	-	+	+	65,2
Вятский голозерный, Кречет	+	+	-	67,8
Памяти Очакова, Привет	+	+	+	71,5
Краснообский, Талисман	+	+	+	68,3

Бидайдың 100 және арпаның 50 үлгілеріне β -глюкан синтезіне жауап беретін гендеріне 7 праймерлердің көмегімен скрининг жасап, олардың нәтижелері 3-ші кестеде көрсетілген. Бидайдың 18 сорт үлгілеріне және арпаның 18 сорт үлгілеріне салмағы 157 ж.н. *HvCSLF6* геніне скрининг жасағанда алынған нәтиже төменде көрсетілген (сурет 2).

таза β -глюканның концентрациясын арттыруға мүмкіндік берді.

Микротолқынмен бөліп алу әдісі. Бидайдың Лютесценс 24, арпаның Азық, сұлының Саян сорттарынан микротолқынмен β -глюкан бөлініп алынды. Микротолқындар қатты заттар мен еріткіш арасында температура градиентін жасай отырып, шектеуші диффузия қадамына



Сурет 2 – ПЦР өнімдерінің *HvCSLF6* локусының электрофоретикалық бөлінуінің нәтижесі

Алынған бидайдың 18 сорттарында – Казахстанская 3, Юбилейная 60, Лютесценс 70, Карагандинская 93, Лютесценс 90, Кызыл бас, Казахстанская 15, Лютесценс 24 және Лютесценс 601 сорттары ғана *HvCSLF6* гені бары көрінсе, ал арпаның барлық 18 үлгілерінде болды.

Қышқылмен бөліп алу әдісі. Зерттеу жұмыстарына дәнді дақылдардың барлық сорттары қолданылды. Соның ішінде бидайдың Лютесценс 24, арпаның Азық, сұлының Саян сорттарының 10 г дәннен шамамен 0,45 г β -глюкан сығындысын алдық. Басқаша айтқанда, өнім шығымы 0,5% құрайды. Яғни, бидай үлгісінің 10 г құрамындағы β -глюканның таза концентрациясы 66,6%, арпада 83,4%, сұлыда 75,7% құрайды. Бұл нәтижелер сығындыдағы

айтарлықтай әсер етуі мүмкін. Бұл температура градиенті микротолқынды сіңіру қасиеттерінің айырмашылығының нәтижесі болып табылады. Бірақ, жұмыс барысында бұл әдістің ұзақ уақытты талап ететіні және өнім шығындысының да аз мөлшерде алынатынын байқауға болады. Микротолқынды экстракция әдісінің бір ерекшелігі пайдаланылатын дәнді дақылдардың шикі және кептірілген түрлері пайдаланылады. Яғни, ерітіндіні тоңазытқышта сақтағаннан кейін, кептірмес бұрын массасын өлшеп алу қажет. Олардың массасының көмегімен β -глюканның концентрациясын өлшеуге болады. Демек, 10 г «Лютесценс 24» бидай сортынан небәрі 0,026 % ғана β -глюкан, сұлы сортынан 0,048% ғана және арпа сортынан 0,065% β -глюкан өндіруге болады.

Кесте 3 – Арпа мен бидай сорттарына β -глюкан синтезіне жауапты гендерінің скринингі және β -глюкан концентрациясы

Сорт атауы	Ген							β -глюкан, %
	<i>HvCslF3</i>	<i>HvCslF4</i>	<i>HvCslF6</i>	<i>HvCslF7</i>	<i>HvCslF8</i>	<i>HvCslF9</i>	<i>HvCslF10</i>	
Арпа								
Азық, Ақжол, Астана 2000, Бәйшешек	+	+	+	-	+	+	+	87,6
Olbram, Ladik	-	+	+	-	+	-	+	85,0
Асем, 2013-С/22	+	+	+	-	+	+	+	84,4
ГП-245, ГП-312	-	-	+	-	+	-	-	84,2
Қымбат, Грана, Дербес	+	+	+	-	+	+	+	87,0
2013-С/32, 2013-С/34	+	+	+	-	+	+	+	79,5
Jubilant, Аққайың, Арпа	+	+	+	-	+	+	+	81,3
2013-С/26, ГП-218, ГП-242	-	-	+	-	+	-	-	80,5
2013-С/13, ГП-274, ГП-332	-	-	+	-	+	-	-	82,5
ГП-218, ГП-318	-	-	+	-	+	-	-	81,1
Amulet, Donum, Дивный	+	+	+	-	+	+	+	80,0
Қарабалық 43, Қарабалық 115	+	+	+	-	+	+	+	85,1
Береке, Медикум 8955	+	+	+	-	+	+	+	79,1
2013-С/31, ГП-328	-	-	+	-	+	-	-	85,9

Heris, Аргул, Нуринский 1	+	+	+	-	+	+	+	82,5
2013-C/17, 2013-C/18	+	+	+	-	+	+	+	85,4
Бота, Медикум 85, Tolar	+	+	+	-	+	+	+	90,5
Victor, Maridol, Донецкий 90	+	+	+	-	+	+	+	80,4
Сусын, , Қымбат, 2013-C/27, Forum	+	+	+	-	+	+	+	77,5
Бидай	<i>HvCslF3</i>	<i>HvCslF4</i>	<i>HvCslF6</i>	<i>HvCslF7</i>	<i>HvCslF8</i>	<i>HvCslF9</i>	<i>HvCslF10</i>	β-глюкан, %
Казахстанская 3, Юбелейная 60, Лютесценс 70	+	+	+	+	+	+	+	45,5
Карагандинская 93, Лютесценс 90, Кызыл бас, Карагандинская 22, Лютесценс 1135	+	+	+	+	+	+	+	47,5
Казахстанская 15, Лютесценс 24, Лютесценс 601	+	+	+	+	+	+	+	66,6
Надежда, Шагала, Э- 758	-	+	-	-	-	+	-	46,5
Глубоковская, Фитон Л9, Лютесценс 1212	-	+	+	+	-	+	+	49,5
Степная 1417, Ляззат, Лютесценс 1236	-	-	+	+	-	-	+	50,6
Карагандинская 2, Карабалыкская 98	+	+	+	+	+	+	+	56,0
Жазира, Августина, Э-758	-	-	+	+	-	-	+	45,2
Казахстанская 4, Лютесценс 122	-	+	+	+	-	+	+	55,1
Лютесценс 166-СП94, Лютесценс 686	+	-	-	-	+	-	-	45,0
Ильинская, Казахстанская 10	+	+	+	+	+	+	+	57,8
Северянка, Э-746, Северянка 2	-	-	+	+	-	-	+	56,5
Линия 165, Лютесценс 823, Лютенсес 1082	+	-	-	-	+	-	-	49,7
Шортандинская 2014, Целинная 26	+	+	+	+	+	+	+	48,5
Астана 2, Целинная нива	+	+	+	+	+	+	+	45,8
Асыл сапа, Арай, Самгау	+	+	-	-	+	+	-	50,0

Жоғары температурада қыздыру әдісі. Жоғары температурада қыздыру нәтижесінде 10 г «Лютесценс 24» бидай сортынан небәрі 0,038 % ғана β-глюкан, сұлы сортынан 0,065% ғана және арпа сортынан 0,079% β-глюкан алынды.

Осы үш әдісті салыстыра отырып, микротолқынмен және жоғары температурамен қыздыру әдістері арқылы бөліп алынған β-глюкан мөлшері қышқылмен бөлу әдісіне қарағанда бөліну пайызы аз екендігі көруге болады.

ҚОРЫТЫНДЫ

Сонымен қорытындылай келе, бидайдың 100, арпаның 50 және сұлының 50 сорттарына талдау жүргізіліп, генетикалық ДНҚ топтамасы жасалды. Әр сорт β-глюкан син-

тезіне жауап беретін гендерді анықтайтын скринингтен өтті. Олар сұлының үлгілеріне *CslF6-global*, *CslF6-AA* және *CslF6-CC*, ал бидай мен арпа үлгілеріне *HvCslF3*, *HvCslF4*, *HvCslF6*, *HvCslF7*, *HvCslF8*, *HvCslF9* және *HvCslF10* гендері.

β-Глюканды бөліп алу үшін қышқылдық, микротолқынды және жоғары температурада қыздыру әдістерін қолданып нәтижесін салыстырғанда қышқылмен бөліп алу әдісі тиімдірек болды. Бұл әдіс арқылы таза β-глюканды алу оңай және кәдімгі қышқылдардан қарағанда лимон қышқылын қолдану зиянсыз, әрі қолжетімді болып табылады. Ал микротолқынды және жоғары температурада қыздыру әдістерінде β-глюкан дұрыс таза бөлінбеді және қышқылдық экстракция әдісіне қарағанда өнім

шығымы аз болды. Бұл әдіс арқылы таза β -глюканды алу оңай және кәдімгі қышқылдардан қарағанда лимон қышқылын қолдану зиянсыз, әрі қолжетімді болып табылады. Қышқылмен бөліп алу жетілдірілген әдісі 10 г дәніндегі таза β -глюканның концентрациясы 66,6% екенін көрсетті және β -глюкан сығындысының жалпы шығымы 11,3% ға дейін өсті.

Маңызды фактор ретінде бета-глюканды анықтайтын синтез гендерінің болуына қарамастан, әрбір дәнді дақылда биосинтез жылдамдығы мен осы полисахаридтің нақты концентрациясы туралы нақты түсінік жоқ [18]. Барлық арпа мен сұлы үлгілерінде кездесетін *Cs1F6* генінің бета-глюканның синтезі үшін маңызды екендігі көрсетілген. Арпаның ГП-245, ГП-312 сорттарында зерттелген жеті геннің тек екі гені табылғанымен, олардағы бета-глюканның орташа мөлшері 84,2% құрады. Ал, ешбір арпа сортында кездеспейтін *Cs1F7*-ден басқа гендері бар Береке, Медикум 8955 сорттарында – 79,1%. Бидай сорттарында *Cs1F6* болуы немесе болмауы β -глюканның сандық құрамына әсер еткен жоқ. Ал Асыл сапа, Арай, Самғау сорттарында бұл ген анықталмағанымен полисахарид мөлшері, мысалы, Қазақстанская 3, Юбилейная 60, Лютесценс 70, Қарагандинская 93, Лютесценс 90, Қызылбас, Қарагандинская 22, Лютесценс 1135, Астана 2, Целинная Ниваға қарағанда жоғары болды.

Өсімдіктердің генетикалық ресурстарын және биоактивті қосылыстардың биосинтез процестерін зерттеу әдіснамалық және теориялық тәсілдерді үнемі жетілдіруді талап етеді. Адам организмнің қалыпты жұмыс істеуі үшін қажетті функционалдық қоректену көздері болып табылатын β -глюкандардың пайдасы зор. Сондықтан дәнді дақылдардың көпшілігінің, оның ішінде бидайдың негізгі тағамдық құндылығын талдау қажет. Бүгінгі күні бидай өсімдіктерінің жасуша қабырғаларындағы полисахаридтердің құрылымы мен физика-химиялық қасиеттері зерттелген. Дегенмен, β -глюкандардың синтезіне жауап беретін ферменттер мен кодтаушы гендер әлі де зерттеуге талап етіледі. Гендердің экспрессиясының транскрипциялық факторларын және олардың өсімдіктердің басқа физиологиялық функцияларымен байланысын одан әрі зерттеу селекционерлерге қажетті қасиеттері бар дәнді дақылдардың жаңа сорттарын шығаруға мүмкіндік береді. Мұндай сорттар адам рационының ажырамас бөлігіне айналады және әр елдің азық-түлік қауіпсіздігінің негізі болады.

Зерттеулер Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі қаржыландыратын ОР11465447 ғылыми-техникалық бағдарламасына сәйкес жүргізілді.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР

1. Bangari, S. Effects of Oat Beta Glucan on the Stability and Textural Properties of Beta Glucan Fortified Milk Beverage. A Research Paper Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master of Science Degree III Food and Nutritional Sciences. University of Wisconsin-Stout, Menomonie, WI, 2011. 51 p.

2. Havrlentová, M., Petrušáková, Z., Burgárová, A., Gago, F., Hlinková, A. and Šturdík, E. Cereal β -glucans and their Significance for the Preparation of Functional Foods. // Czech J. Food Sci. - 2011. - Vol. 29. - P. 1-14.

3. Katongole, J.N. Aqueous protein based extraction of oat beta glucan and its physiological effects on satiety and glycaemic responses in healthy adults. // A Thesis the degree of Master of Science In Food Science. The University of Guelph, Ontario, Canada, 2011- 119 p.

4. Christopher, H. Beta Glucan a 21st Century Miracle: U.S.A. Published by www.booksmando.com. 2013.

5. Bell, S. J., Armour Forse, R., Bistran, B. R. // Dietary supplement and method for lowering risk of heart disease. US Patent – 2001. – N. 6. – P.210-217.

6. Keogh, G.F., Cooper, G.J., Mulvey, T.B., McArdle, B.H., Coles, G.D., Monro, J.A., Poppitt, S.D. Randomized controlled crossover study of the effect of a highly beta-glucan-enriched barley on cardiovascular disease risk factors in mildly hypercholesterolemic men // Am J Clin Nutr. – 2003. – N.78. – P. 711-718.

7. Nicolosi, R., Bell, S. J., Bistran, B. R., Greenberg, I., Forse, R. A., Blackburn, G. L. Plasma lipid changes after supplementations with β -glucan fiber from yeast // Am J Clin Nutr. – 1999. –N. 70. – P. 208-212.

8. Steriti, R. Beta-glucans for cardiovascular support // Dynamic Chiropractic. – 2007. – N. 7. – P. 1-6.

9. Todd, A. Richmond, Chris R. Somerville. The Cellulose Synthase Superfamily 1. // Plant Physiology. – 2000. - Vol. 124. - P. 495–498. <https://doi.org/10.1104/pp.124.2.495>.

10. [Schwerdt, J.G., MacKenzie, K., Wright, F., Oehme, D., Wagner, J.M., Harvey, A.J., Shirley, N.J., Burton, R.A., Schreiber, M., Halpin, C. Evolutionary dynamics of the cellulose synthase gene superfamily in grasses.// Plant Physiol. – 2015. – Vol.168(3). – P. 968–83.

11. Simerjeet Kaur, Kanwarpal S. Dhugga, Robin Beech and Jaswinder Singh. Genome-wide analysis of the cellulose synthase-like (Csl) gene family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). // BMC Plant Biology. – 2017. - 17:193. DOI 10.1186/s12870-017-1142-z.

12. Hazen, S.P., Scott-Craig, J.S., and Walton J.D. Cellulose Synthase-Like Genes of Rice. // Plant Physiology. – 2002. - Vol. 128. - P. 336–340.

13. Genomic DNA Purification Kit — [Электронный ресурс] — Режим доступа. — URL:<http://www.thermoscientificbio.com/nucleic-acid-purification/dna-from-cells-and-tissue/genomic-dna-purification-kit/> (дата обращения 21.04.2014).

14. Bin, Du, Fengmwi, Zhu, Baojun, Xu. β -Glucan extraction from bran of hull-less barley by accelerated solvent extraction combined with response surface methodology. // Journal of Cereal Science. – 2014. – N. 59. – P. 95-100.

15. Ahmada, A., Anjum, F.M., Zahoorb, T., Nawazc, H. and Ahmed, Z. Extraction and characterization of β -D-glucan from oat for industrial utilization. // International Journal of Biological Macromolecules. - 2010. - Vol. 46. - P. 304–309.

16. Wood, P.J., Paton, D. and Siddiqui, I.R. Determination of β -Glucan in oats and barley. // Cereal Chem. - 1976. - Vol. 54. - P. 524-533.

17. Limberger-Bayer, V.M., Francisco, A.D., Chan, A., Oro, T., Ogliari, P.J. and Barreto, P.L.M. Barley β -glucans extraction and partial characterization. // Food Chemistry. -

2014. - Vol. 154. - P. 84-89.

18. Takuji Tonooka, Emiko Aoki, Toji Yoshioka and Shin Taketa. A novel mutant gene for (1-3, 1-4)- β -D-glucanless grain on barley (*Hordeum vulgare* L.) chromosome 7H. // *Breeding Science*. – 2009. - Vol. 59. – Is.1. – P. 47-54. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.59.47>

REFERENCE

1. Bangari, S. Effects of Oat Beta Glucan on the Stability and Textural Properties of Beta Glucan Fortified Milk Beverage. A Research Paper Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master of Science Degree III Food and Nutritional Sciences. University of Wisconsin-Stout, Menomonie, WI, 2011. 51 p.

2. Havrentová, M., Petrušáková, Z., Burgárová, A., Gago, F., Hlinková, A. and Šturdík, E. Cereal β -glucans and their Significance for the Preparation of Functional Foods. // *Czech J. Food Sci.* - 2011. - Vol. 29. - P. 1-14.

3. Katongole, J.N. Aqueous protein based extraction of oat beta glucan and its physiological effects on satiety and glycaemic responses in healthy adults. // A Thesis the degree of Master of Science In Food Science. The University of Guelph, Ontario, Canada, 2011- 119 p.

4. Christopher, H. Beta Glucan a 21st Century Miracle: U.S.A. Published by www.booksmango.com. 2013.

5. Bell, S. J., Armour Forse, R., Bistrrian, B. R. // Dietary supplement and method for lowering risk of heart disease. US Patent – 2001. – N. 6. – P.210-217.

6. Keogh, G.F., Cooper, G.J., Mulvey, T.B., McArdle, B.H., Coles, G.D., Monro, J.A., Poppitt, S.D. Randomized controlled crossover study of the effect of a highly beta-glucan-enriched barley on cardiovascular disease risk factors in mildly hypercholesterolemic men // *Am J Clin Nutr.* – 2003. – N.78. – P. 711-718.

7. Nicolosi, R., Bell, S. J., Bistrrian, B. R., Greenberg, I., Forse, R. A., Blackburn, G. L. Plasma lipid changes after supplementations with β -glucan fiber from yeast // *Am J Clin Nutr.* – 1999. –N. 70. – P. 208-212.

8. Steriti, R. Beta-glucans for cardiovascular support // *Dynamic Chiropractic*. – 2007. – N. 7. – P. 1-6.

9. Todd, A. Richmond, Chris R. Somerville. The Cellulose Synthase Superfamily 1. // *Plant Physiology*.

– 2000. - Vol. 124. - P. 495–498. <https://doi.org/10.1104/pp.124.2.495>.

10. [Schwerdt, J.G., MacKenzie, K., Wright, F., Oehme, D., Wagner, J.M., Harvey, A.J., Shirley, N.J., Burton, R.A., Schreiber, M., Halpin, C. Evolutionary dynamics of the cellulose synthase gene superfamily in grasses.// *Plant Physiol.* – 2015. – Vol.168(3). – P. 968–83.

11. Simerjeet Kaur, Kanwarpal S. Dhugga, Robin Beech and Jaswinder Singh. Genome-wide analysis of the cellulose synthase-like (Csl) gene family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). // *BMC Plant Biology*. – 2017. - 17:193. DOI 10.1186/s12870-017-1142-z.

12. Hazen, S.P., Scott-Craig, J.S., and Walton J.D. Cellulose Synthase-Like Genes of Rice. // *Plant Physiology*. – 2002. - Vol. 128. - P. 336–340.

13. Genomic DNA Purification Kit — [Электронный ресурс] — Режим доступа. — URL:<http://www.thermoscientificbio.com/nucleic-acid-purification/dna-from-cells-and-tissue/> genomic-dna-purification-kit/ (дата обращения 21.04.2014).

14. Bin, Du, Fengmwi, Zhu, Baojun, Xu. β -Glucan extraction from bran of hull-less barley by accelerated solvent extraction combined with response surface methodology. // *Journal of Cereal Science*. – 2014. – N. 59. – P. 95-100.

15. Ahmada, A., Anjum, F.M., Zahoorb, T., Nawazc, H. and Ahmed, Z. Extraction and characterization of β -D-glucan from oat for industrial utilization. // *International Journal of Biological Macromolecules*. - 2010. - Vol. 46. - P. 304–309.

16. Wood, P.J., Paton, D. and Siddiqui, I.R. Determination of β -Glucan in oats and barley. // *Cereal Chem.* - 1976. - Vol. 54. - P. 524-533.

17. Limberger-Bayer, V.M., Francisco, A.D., Chan, A., Oro, T., Ogliari, P.J. and Barreto, P.L.M. Barley β -glucans extraction and partial characterization. // *Food Chemistry*. - 2014. - Vol. 154. - P. 84-89.

18. Takuji Tonooka, Emiko Aoki, Toji Yoshioka and Shin Taketa. A novel mutant gene for (1-3, 1-4)- β -D-glucanless grain on barley (*Hordeum vulgare* L.) chromosome 7H. // *Breeding Science*. – 2009. - Vol. 59. – Is.1. – P. 47-54. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.59.47>

СКРИНИНГ ГЕНОВ ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА СИНТЕЗ В-ГЛЮКАНА У СОРТОВ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР

Исмагулова Г.А.¹, Байжуманова С.С.^{1*}, Исакова Г.А.¹, Байсапарова Д.О.¹, Мендеш А.М.¹, Тусипова А.А.², Скиба Ю.А.^{1,3}, Мальцева Э.Р.^{1,3}, Найзабаева Д.А.^{1,3}, Есимбекова М.А.⁴, Мукин К.Б.⁴

¹Институт молекулярной биологии и биохимии имени М.А.Айтхожина, КН МОН РК, ул. Досмухамедова 80, Алматы, 050012, Казахстан;

²КазНУ имени Аль-фараби, пр. Аль-фараби 71, г. Алматы, 050040, Казахстан;

³Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии» МЗ РК в Алматы ул. Жахангер 14, г. Алматы, 050054, Казахстан;

⁴ТОО КазНИИЗиР, село Алмалыбак, Алматинская область, 040909, Казахстан.

*jansaule_1986@mail.ru

АБСТРАКТ

В настоящее время большое значение для жизни человека имеет β -глюкан. Потому что, он снижает риск многих хронических заболеваний, таких как диабет, рак и расстройства пищеварения. Благодаря этим свойствам β -глюкан является природным веществом, которое может быть использовано в фармацевтических препаратах для профилактики и лечения многих хронических заболеваний. Поэтому был проведен анализ зерновых культур, богатых источниками β -глюканов - 100 сортов пшеницы, 50 сортов ячменя и 50 сортов овса, и сделана коллекция геномной ДНК. Каждый сорт подвергался скринингу для выявления генов, ответственных за синтез β -глюканов. В исследованиях было рассмотрено 10 генов. В результате эти гены были идентифицированы у сортов ячменя, пшеницы и овса.

Для выделения β -глюкана были использованы методы кислотной экстракции, микроволновой и нагревание при высокой температуре. Для исследований был отработан модифицированный метод выделения β -глюкана из овсяных хлопьев. По результатам метод кислотной экстракции оказался более эффективным. Этим методом легко получить чистый β -глюкан, а использование лимонной кислоты безопаснее и доступнее, чем обычные кислоты. Усовершенствованный метод кислотной экстракции показал, что концентрация чистого β -глюкана в 10 г зерна пшеницы составила 66,6%, а общий выход экстракта β -глюкана увеличился до 11,3%.

Ключевые слова: β -глюкан, гены, пшеница, ячмень, овес, скрининг, экстракция.

SCREENING OF GENES RESPONSIBLE FOR B-GLUCAN SYNTHESIS IN GRAIN VARIETIES

Ismagulova G.A.¹, Baizhumanova S.S.^{1*}, Iskakova G.A.¹, Baisaparova D.O.¹, Mendesh A.M.¹, Tussipova A.A.², Skiba Yu.A.^{1,3}, Maltseva E.R.^{1,3}, Naizabayeva D.A.^{1,3}, Esimbekova M.A.⁴, Mukin K.B.⁴

¹M.A. Aitkhozhin's institute of molecular biology and biochemistry CS MES RK, Dosmukhamedov st., 86, Almaty, 050012, Kazakhstan;

²Al-Farabi Kazakh National University, Al-Farabi av. 71, 050040 Almaty;

³Almaty Branch of the National Center for Biotechnology, Zhahanger st. 14, Almaty, 050054, Kazakhstan;

⁴LLP "KazRIAPG", Almalybak village, Almaty region, 040909, Kazakhstan.

*jansaule_1986@mail.ru

ABSTRACT

Currently, β -glucan has a great importance for human life. Because it reduces the risks of many chronic diseases such as diabetes, cancer and digestive disorders. Due to these properties, β -glucan is a natural substance that can be used in pharmaceutical preparations for the prevention and treatment of many chronic diseases. Therefore, an analysis was made for crops rich in sources of β -glucans - 100 varieties of wheat, 50 varieties of barley and 50 varieties of oats, and a collection of genomic DNA was made. Each variety was screened to identify the genes responsible for the synthesis of β -glucans. In the frames of this study, 10 genes were considered. As a result, these genes have been identified in barley, wheat, and oat varieties.

For the isolation of β -glucan, the methods of acid extraction, microwave, and heating at high temperature were used. A modified method for isolating β -glucan from oatmeal was developed. According to the results, the acid extraction method proved to be more effective. It is easy to obtain pure β -glucan by this method, and the use of citric acid is safer and more affordable than conventional acids. The improved acid extraction method showed that the concentration of pure β -glucan per 10 g of wheat grain was 66.6%, and the total yield of β -glucan extract increased to 11.3%.

Key words: β -glucan, genes, wheat, barley, oats, screening, extraction.