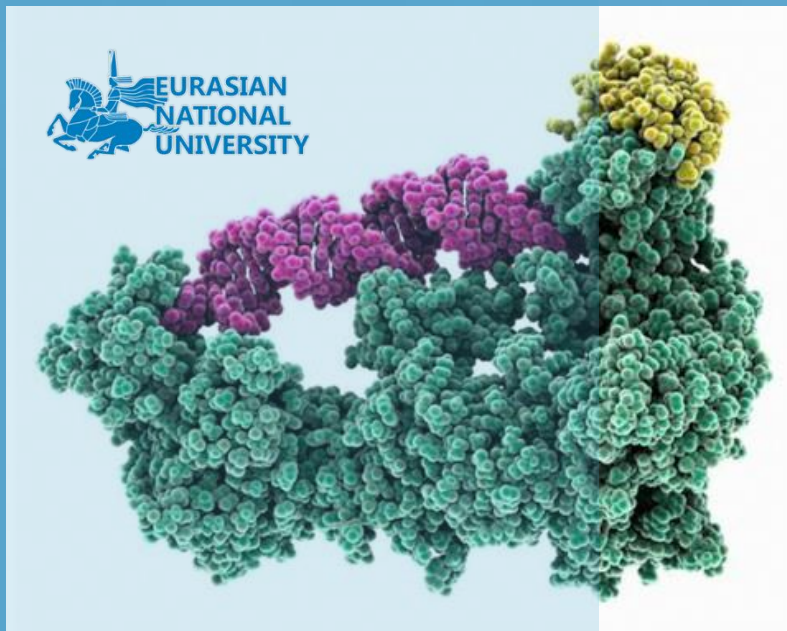


ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРЛІГІ
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ



Л. Н. ГУМИЛЕВА АТЫНДАҒЫ
ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ЕВРАЗИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Л. Н. ГУМИЛЕВА

АСТАНА, ҚАЗАҚСТАН
14 СӘУІР 2023 ЖЫЛ

АСТАНА, КАЗАХСТАН
14 АПРЕЛЯ 2023 ГОД

"ОМАРОВ ОҚУЛАРЫ: ХХІ
ҒАСЫРДЫҢ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ
БИОТЕХНОЛОГИЯСЫ" АТТЫ
ХАЛЫҚАРАЛЫҚ ҒЫЛЫМИ
ФОРУМНЫҢ БАЯНДАМАЛАР
ЖИНАҒЫ

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
МЕЖДУНАРОДНОГО НАУЧНОГО
ФОРУМА "ОМАРОВСКИЕ ЧТЕНИЯ:
БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ
ХХІ ВЕКА"

УДК 57 (063)
ББК 28.0
Ж 66

Жалпы редакцияны басқарған т.ғ.д., профессор Е.Б. Сыдықов
Под редакцией д.и.н., профессора Е.Б. Сыдыкова

Редакция алқасы:
Редакционная коллегия:

Ж.К. Масалимов, А.Б. Курманбаева, А.Ж. Акбасова, С.Б. Жангазин, Н.Н. Иқсат.

«Омаров оқулары: ХХІ ғасыр биология және биотехнологиясы» халықаралық ғылыми форумының баяндамалар жинағы. – Астана: Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, 2023. – 298 б., қазақша, орысша, ағылшынша.

Сборник материалов международного научного форума «Омаровские чтения: Биология и биотехнология ХХІ века». – Астана. Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, 2023. – 298 с., казахский, русский, английский.

ISBN 978-601-337-847-3

Жинақ «Омаров оқулары: ХХІ ғасыр биология және биотехнологиясы» атты халықаралық ғылыми форумына қатысушылардың баяндамаларымен құрастырылған. Бұл басылымда биология, биотехнология, молекулалық биология және генетиканың маңызды мәселелері қарастырылған. Жинақ ғылыми қызметкерлерге, PhD докторанттарға, магистранттарға, сәйкес мамандықтағы студенттерге арналған.

Сборник составлен по материалам, представленным участниками международного научного форума «Омаровские чтения: Биология и биотехнология ХХІ века». Издание освещает актуальные вопросы биологии, биотехнологии, молекулярной биологии и генетики. Сборник рассчитан на научных работников, PhD докторантов, магистрантов, студентов соответствующих специальностей.



УДК 57
ББК 28
О-58

©Коллектив авторов, 2023
©Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, 2023

УДК 57.579.2

ЛАКТОБАЦИЛЛУС ЖӘНЕ BIFIDOBACTERIUM ТҮРЛЕРІНЕ ЖАТАТЫН БАКТЕРИЯЛАРДЫ ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ

Кадырбаева Гүлмарал Мейрамбайқызы, Мухтаров Абилхас Қапизович
Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан
Gylmaral1209@icloud.com

Тақырыптың өзектілігі: Пробиотикалық бактериялар адам денсаулығын жақсартуға, ауруларды бақылауға және иммундық реакцияларды жақсартуға арналған маңызды құралға айналуға. Әр түрлі табиғи және табиғи емес сүт өнімдерінің құрамында көптеген белсенді сүтқышқылды бактериялардың штамдары кездеседі. Қазіргі уақытта медицина және денсаулық сақтау саласында сол тиімді әрі белсенді штамдардан консорциум құрастырып, олардың уникалды қасиеттерін бірге пайдалану белең алып келеді.

Зерттеу жұмысының мақсаты: лактобактерия мен бифидобактериялардың белсенді штамдарын бөліп алып, өндірісте пробиотик, сүт ұйытқыларын алу мақсатында қолдану.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Сүт өнімдерінен сүтқышқылды бактерияларды бөліп алу;
2. Лактобактериялар мен бифидобактериялардың биомасса жинақтау бойынша белсенді штамдарын іріктеп алу;
3. Бөлініп алынған сүтқышқылды бактерия штамдарын идентификациялау;
4. Биомассаны ең белсенді жинақтайтын штамдардың консорциумын құрастыру.

Зерттеу әдістері: Биомассаны жинақтау әдісі, спектрофотометриялық әдіс, агарлы блок әдісі, ПТР амплификациялық және идентификациялық әдіс, морфологиялық – культуралық және физиология – биохимиялық қасиеттерін анықтау, биосәйкестік әдісі.

Зерттеу нысаналары: 20 сүтқышқылды бактерия штамдары.

Сүтқышқылды бактерия штамдарының қай түрге жататындығын анықтау үшін физиологиялық және биохимиялық, дәстүрлі морфологиялық, қасиеттерін зерттедік. Бөлініп алынған штамдардың морфологиялық белгілерін анықтау үшін штамдарды микробиологиялық әдістермен өсірдік, жасушалардың қозғалыссыз екендігін микроскопиялық әдістермен қарап бақыладық, Грам әдісімен бояп, жасушалардың грам оң екенін анықтадық. Жасушалардың өсу морфологиясы, мөлшері, ұзындығы кестеде көрсетілген. Алынған нәтижелер өсу биомасса жинақтау кезінде белсенді өсінділерді сүтқышқылды бактериялардың түрлеріне жатқызуға болатынын дәлелдейді.

Сүтқышқылды бактериялардың түрлік идентификациясы басқа бактериялар сияқты олардың көмірсулар алмасуының белгілі бір ерекшеліктеріне негізделген. Зерттелетін штамдардың физиология-биохимиялық идентификациялық белгілері 1,2-кестелерде келтірілген.

1-кесте - Көмірсуларды сүтқышқылды бактерия түрлерімен ашыту.

Көмірсулар Штамдар	A-1 бақылау	4	Q-	2	SH-	3	A-	1	Y-	2	T-
Амигдалии	+		+		+		+		+		-
Арабиноза	-		-		-		±		+		+
Целлобиоза	+		+		+		+		+		-
Фруктоза	+		+		+		+		+		+
Мелецитоз	+		+		+		+		+		+
a											
Глюкоза	+		+		+		+		+		+
Глюконат	-		-		-		+		+		+
Лактоза	+		+		+		+		+		+
Эскулин	+		+		+		+		+		+
Манит	+		+		+		+		+		+
Манноза	+		+		+		+		+		-
Галактоза	-		-		-		±		+		-
Мелибиоза	+		±		±		+		+		+
Сахароза	±		+		±		+		+		+
Рамноза	-		-		-		-		-		-
Рибоза	-		-		-		+		+		+
Салицин	-		+		+		+		+		-
Сорбит	+		+		+		+		+		-
Раффиноза	+		+		+		+		+		+
Трегалоза	+		+		+		+		+		-
Ксилоза	-		c		-		c		+		+
Мальтоза	+		-		+		+		+		C
Ескерту: «+» -оң нәтиже, «-» теріс нәтиже, «±» вариабельділік, «c» әлсіз реакция.											

Алынған деректерді растау үшін ұжымдық пайдаланылатын ұлттық Биотехнология орталығының зертханасында осы штамдарды генотиптеу жүргізілді.

Зерттелген өсінділерді штамм генотиптегеннен соң GeneBank халықаралық дерекқорында сақталған тізбектермен нуклеотидтік бірегейлікті анықтаумен аймақтың тікелей нуклеотидтік бірізділігін анықтау әдісімен жүзеге асырылды.

ДНҚ 30 мг бөлу үшін ашытқы өсінділерін-82°C мұздатқан, содан соң пестик арқылы ерітілген. Содан соң алынған суспензияны 500 мкл те буферге суспензиялады. Суспензия ішіне жасушаларды лизирлеу үшін 9 мкл лизоцим ферменті қосылды, 2 сағат бойы 38°C температура кезінде мұқият араластырылды және инкубацияланды. Содан кейін SDS 30 мкл 10% және 3 мкл протеиназа к (20 мг/мл) қосылды. Одан кейін 37°C температурада 3 сағат бойы инкубацияланды. Жасуша қабырғаның фрагменттерін, қалдық белоктар мен полисахаридтерді жою үшін 100 мкл 5м NaCl қосылды, дұрыстап араластырылып, СТАВ в 0б М NaCl) қосылды, 10 минут бойы, 65°C температурада инкубациялады. Одан соң жаңа пробиркаға ауыстырылды және фенол/изоамил/хлороформ спиртмен тазарту қайталады. Центрифугалағаннан кейін суспензияны жаңа таза пробиркаларға ауыстырылды және изопропилдің 0,6 мкл көлемімен ДНҚ преципитациялады. 10 минут ішінде 12000 об/мин кезінде центрифугаланды, ДНҚ тұнбасы 70% этил спиртмен бір рет жуылды. Кейін

центрифугаланды және сұйық фаза алынып тасталды. Содан соң тұнба ауада 20 минут бойы кептірілді. ДНҚ үлгілерін 100 мкл бір рет буферде ерітіп, -22°C кезінде сақтады.

ДНҚ концентрациясының толқын ұзындығы 250 нм болған шағында nanodrop спектрофотометрін пайдалану арқылы спектрофотометриялық әдіспен өлшенді. Сандық бағалаудан соң ДНҚ концентрациясы 30 нг/мкл дейін қалыпқа келтірілді.

Кесте 2 - ҚДС қоректік ортасында өсіру кезіндегі лактобактерия және бифидобактерия өсінділерінің өсу динамикасы

Штамдар	Өміршең жасушалардың концентрациясы, lgKOE/мл, уақыты, сағ			
	8	12	24	30
<i>Lactobacillus acidophilus A-1</i>	5,2±3,4	8,2±2,3	7,7±1,2	7,3±1,4
Q-4	7,8±3,1	9,3±2,1	9,2±1,8	8,4±1,6
SH-1	7,6±2,9	8,4±2,2	8,1±2,0	7,4±1,1
A-3	4,6±2,7	7,2±1,9	7,0±1,4	5,2±1,3
T-2	5,3±2,3	6,4±2,0	6,1±1,8	5,7±1,3
Y-1	8,2±2,2	9,3±2,6	8,7±2,1	7,4±1,3

2.6.0 (Applide Biosystems) бағдарламасы арқылы жалпы бірізділікке бойынша тексерілді. Содан соң соңғы фрагменттер алынып тасталды (праймерлердің соңғы нуклеотидтік тізбектері, сапаның төмен көрсеткіші бар фрагменттер) бұл бізге BLAST алгоритмі бойынша GeneBank-та сәйкестендірілген 530 п.Ғ. ұзақтығындағы нуклеотидті тізбекті алуға мүмкіндік тудырды. Сәйкестендіру нәтижелері 3- кестеде көрсетілген.

Кесте 3 - BLAST арқылы геннің ITS аймағының нуклеотидті бірізділікті талдау әдісімен сәйкестендіру нәтижелері

Дәйектілік	Идентификация нәтижелері		
	Өсін ділер	Т үрі	% сәйкестік
TGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTC AAACCCCTGGTTTGGTATTGAGTGATACTC TTAGTCGGACTAGGCGTTTGCTTTAAAAGTG CCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTCAAACCC CCTGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTC GGACTAGGCGTTTGCTTTAAAAGTGCCTGTT TGAGCGTCATTTCTCTCTCAAACCCC	Q-4	<i>actoba cillus acidop hillus</i>	L 97
AAACCCCTGGTTTGGTATAAACCC CTGGTTTGGTATAAACCCCTGGTTTGGTAT AAACCCCTGGTTTGGTATAAACCCCTGGT TTGGTATAAACCCCTGGTTTGGTATAAAC CCCTGGTTTGGTATAAACCCCTGGTTTGGT ATAAACCCCTGGTTTGGTATAAACCCCTG GTTTGGTATAAACCCCTGGTTTGGTATAAA CCCCCTGGTTTGGTATAAACCCCTGGTTT GTATAAACCCCTGGTTTGGTATA	Y-1	<i>actoba cillus bulgari cus</i>	L 99
CGGACTAGGCGTTTGCTTTAAAAGTA TTGGCATGGGTAGTACTAGATAGTGCTGTC GACCTCTCAATGTATTAGGTTTTTCCAACCTC GTTGAATGGTGTGGCGGGATTTTCTCTATT GTTGGCCCGCCCTTACAACAGAATCACGGA CTAGGCGTTTGCTTTAAAAGTATTGGCATGG GTAGTACTAGATAGTGCTGTCGACCTCTCA ATGTATTAGGTTTTTCCAACCTCGTTGAATGG TGTGGCGGGATTTTCTCTATTGTT	T-2	<i>actoba cillus plantar um</i>	L 98
AATGCGATAAGTAATATGAATTGCAG ATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA CATTGCGCCCTATGGTATTCCAAAGGGCAT GCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTCAAACC TTCGGGTTTAGTATTGAGTGATACTCTTAGT CGAACTAGGCGTTTGCTTGAAAAATGCGAT AAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTAAG GGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTC AAACCTTCGGGTTTAGTATTGAGTG	A-3	<i>actoba cillus helvetic us</i>	L 99
TCTTGTTCTCGCATCGATGAAGAAC GCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAATTG CAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAAC GCACATTGCGCCCTATGGTATTCCAAATCTT GGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA ATGCGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTT CGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT GCGCCCTATGGTATTCCAAATCTTGTTCTC GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAAT	SH-1	<i>ifidoba cterium longum</i>	B 98

Осылайша, бөлініп алынған қышқылды сүт өнімдерінен бөлініп алынған 20 өсіндінің 5 ең өнімді өсінділерінің молекулалық-генетикалық және биохимиялық идентификациясы жүргізілді. Зерттелген Q-4 штамы *Lactobacillus acidophilus* түріне жататыны анықталды. Себебі BLAST идентификациялау нәтижесі бойынша 97%-ға сәйкес келді. *Bifidobacterium longum* түріне SH-1 штамы жатады. Себебі идентификация нәтижесі бойынша 98%-ға сәйкестікті көрсетті. T-2 штамы 98 % сәйкестікпен *Lactobacillus plantarum* түріне жататындығын көрсетті. Идентификация нәтижесі бойынша A-3 штамын 99% сәйкестікпен *Lactobacillus helveticus* түріне жататынын анықтадық. Y-1 штамы 99% сәйкестікпен *Lactobacillus bulgaricus* түрі екені анықталды.

Пробиотикалық препараттарды әзірлеудегі заманауи бағыттар мен талаптарды ескере отырып, сонымен қатар, құрамында лактобактериялары бар қазірге дейін

белгілі болып жүрген препараттардың артықшылықтары мен кемшіліктерін зерттей отырыа кешенді пробиотикалық композиция құрастыруда келесі тәсілдер қолданылды:

1. Препараттың биологиялық белсенділігінің спектрінің кең болуы мен лактобактерияға жататын түрлерінің биологиялық қасиеттері арқылы ерекшеленетін түрлерін қолдану;

2. Композицияға кіретін өсінділердің биоүйлесімділігі және технологиялық үйлесімділігі;

3. Дайындалған препараттың стандартқа сай екенін қамтамасыз ету үшін культуралық қасиеттері бойынша композицияның әр компонентін сәйкестендіре алу мүмкіндігі;

4. Әрбір өсіндінің тірі клеткаларының құрамы препарат дозасында пробиотиктерге қойылатын жалпыға ортақ қабылданған талаптарға сәйкес болуы және кемінде 107 КОЕ / МЛ құрауы керек.

Композицияға қосу үшін бөлініп алынған 4 сүтқышқылды бактерия штамдарын препаратты құрастыру кезінде ең маңызды технологиялық критерийлер бойынша салыстырдық:

- терең қопсыту барысында биомассаның жиналуы;

- лиофильді кептіру барысындағы тұрақтылық;

- сақтау кезіндегі тұрақтылық.

Бактериялық композиция құрамы жоғарыдағы параметрлер жиынтығын зерттеу нәтижелері арқылы әзірленді.

Қорытынды

1. Әр түрлі сүт өнімдерінен сүтқышқылды бактериялардың 20 түрі бөлініп алынды.

2. Сүт қышқылды бактериялардың жоғарғы биомасса жинақтау белсенділігі келесі штамдарға тән: Q-4, SH-1, A-3, T-2, Y-1.

3. Іріктеліп алынған сүтқышқылды бактерияларды идентификациялаудың қорытындысы бойынша Q-4 штамы *Lactobacillus acidophilus* түріне, SH-1 штамы *Bifidobacterium longum* түріне, A-3 штамы *Lactobacillus helveticus* түріне, Y-1 штамы *Lactobacillus bulgaricus* түріне, T-2 штамы *Lactobacillus plantarum* түріне жататыны анықталды.

4. Биомасса жинақтау бойынша ең белсенді Q-4+SH-1+A-3+T-2+Y-1 өсінділерінің композициясы құрастырылды.

Пайдаланылған әдебиеттер:

1. Глушанова Н.А. Биосовместимость пробиотических и резидентных лактобацилл. ГИУВ, Новокузнецк. Россия/Глушакова Н.А., Блинов А.И.//Гастроэнтерол. - С. - Петербург. - 2005. - № 1 - 22 с.

2. Бондаренко, В. М. Препараты пробиотики, пребиотики и синбиотики в терапии и профилактике кишечных дисбактериозов. / В. М. Бондаренко, Н. М. Грачева // Фарматека. – 2003. – № 7. – С. 56–63.

3. Vlkova, E., Vojtěch, R., Trojanova, I., 2004-Enumeration, Isolation, and Identification of Bifidobacteria from Dairy Products, *Acta agriculturae slovenica*, 84, 1, 31–36.

4. De Vries MC, Vaughan EE, Kleerebezem M, de Vos WM. *Lactobacillus plantarum*-survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *Int Dairy J.* 2006;16:1018–28.