

Медициналық-генетикалық бағалау;
енгізілген ген тізбегін бағалау; нормативтік реттіліктерді бағалау;
басқа гендердің экспрессиясының әсерін зерттеу;
генетикалық түрлендірілген көздердің тұрақтылығын анықтау және қоршаған ортаға әсерін бағалау;

Генетикалық түрлендірілген көздерден алынатын тамақ өнімдерінің технологиялық қасиеттерін зерттеу: оның физика-химиялық қасиеттерін анықтау;
өнімдердің технологиялық параметрлеріне генетикалық модификацияның қауіпсіздігі мен әсерін зерттеу.

ГТА-мен байланысты болуы мүмкін тамақ аллергиясы. Әрбір гендік-модификацияланған өнім тұтынушыға жетер алдында оның аллергендік әлеуетін бағалау рәсімінен өтеді. Тесттер белгілі аллергендермен ақуыз тізбегін салыстыруды, ас қорыту кезінде ақуыздың тұрақтылығын, аллергенге сезімтал адамдардан қан анализін, жануарларға арналған сынақтарды қамтиды. Егер өнім даму процесінде аллергиялық қасиеттерді көрсетсе, коммерциализацияға сұраныс кері қайтарылады [3].

Бұл ретте терең зерттеу және өсімдікке енгізілген генетикалық өзгерістердің адамға және қоршаған ортаға ықтимал теріс әсерлерін болдырмау қажет. Қазіргі кезде генетикалық ағзаларының таралуының негізгі себебі-оларды өсіру кезінде ауылшаруашылық технологиясының жеңілдетілуі және сәйкесінше өндірістің арзандауы. Генетикалық түрлендірілген өсімдік сорттары ауруларға және қолайсыз климаттық жағдайларға төзімді, тез піседі, зиянкестерге қарсы инсектицидтер жасай алады. Бұл ірі шаруашылықтарға айтарлықтай экономикалық пайда әкеледі. Өндірушілер пайда табады, өйткені олардың өнімдері аз мөлшерде, үлкен көлемде өсіріледі, ұзақ уақыт сақталады. «Тұтынушылардың құқықтарын қорғау туралы» Қазақстан Республикасының Заңы бойынша құрамында тамақ өніміндегі генетикалық түрлендірілген өсімдіктің ДНҚ мөлшері 0,9 пайыз және одан да көп болса, өндірушілерді өнімге таңбалауды міндеттейді. Өйткені азық-түлік құрамында ГТА бар екендігі туралы ақпарат болуы керек, бұл адамның таңдау еркіндігін қамтамасыз етеді.

Пайдаланылған әдебиеттер тізімі:

1. ЗАО «Синтол». МР: Методические рекомендации «Качественное и количественное определение генетически модифицированных организмов (ГМО) растительного происхождения в продуктах питания и пищевом сырье тест-системами производства 2009. — 874 с.
2. Донченко, Л. В. Безопасность пищевой продукции. В 2 ч. Часть 1 : учебник для академического бакалавриата / Л. В. Донченко, В. Д. Надикта. — 3-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 264 с.
3. *Eliot M. Herman, Ricki M. Helm, Rudolf Jung, and Anthony J. Kinney. Genetic Modification Removes an Immunodominant Allergen from Soybean (англ.)// Plant Physiology: journal. — American Society of Plant Biologists, 2003.— Vol. 132. — P. 36—43*

УДК 579.67

NICOTIANA BENTHAMIANA ЯДРОСЫНЫҢ АҚУЫЗЫ ФИБРИЛЛЯРИН-2-НІҢ ЖАСУШАЛЫҚ ЛОКАЛИЗАЦИЯСЫН ФУНКЦИОНАЛДЫ ТАЛДАУ

Махмуд Ғазиза

Магистрант, Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан

makhmud_gb@mail.ru

Ғылыми жетекші – Акбасова Алуа Жолдасбаевна

Аннотация: Нуклеоларлы ақуыздар цитологияда, өсімдіктердің өсуі мен дамуында

маңызды рөл атқарады. Фибриллярин2-Nicotiana benthamiana (N. benthamiana) ядросының ақуызы. Оның cDNA RT-PCR әдісімен күшейтіліп, сары флуоресцентті ақуызбен (YFP) белгіленген pEarley101 экспрессиялық векторына енгізілді. Біріктірілген ақуыз N. benthamiana жапырағының эпидермальды жасушаларының ядросында және кахальды денесінде локализацияланған. Ақуыз N. benthamiana fibrillar2 (NbFib2) үш функционалды доменге ие (яғни глицин мен аргининге бай домен, РНҚ байланыстыратын домен және α -спиральды домен) және С ұшындағы ядролық локализация сигналы (NLS). Ақуыздың 3D құрылымын талдау nbfib2 α/β ақуыз екенін көрсетті. Сонымен қатар, nbfib2 функциясын анықтау үшін гендердің вирустық жолын кесу (VIGS) әдісі қолданылды.

Біздің нәтижелеріміз өсудің тежелуі, ағзаның деформациясы, хлороз және некроз сияқты белгілер nbfib2-ді өшіретін N. benthamiana-да пайда болғанын көрсетті.

Кілт сөздер: N. benthamiana, фибриллярин, домен, α -спираль, β -жапырақ, мотив, COFACTOR

Фибриллярин-РНҚ биогенезінде көп функциялы рөл атқаратын негізгі нуклеоликалық ақуыз. Ол РНҚ транскрипциясы мен редакциясына қатысатын ядролық және Кахал денелерінде (CBs) локализацияланған [1]. Фибриллярин-эволюциялық консервативті ақуыз. Адам фибриллярині тышқан фибрилляринімен 94,2% дәйектілік сәйкестілігіне және 82,9% амфибиялық фибрилляринмен бірізділік сәйкестілігіне ие [2]. Адам фибрилляринінің гомологтары дамыған өсімдіктерде де кездеседі.

Фибриллярин әдетте үш доменнен тұрады, оның ішінде глицин мен аргининге бай домен (gag домені), РНҚ байланыстыратын домен және α -спиральды домен. Gag домені фибриллярин функциясы үшін өте маңызды. Бұл домен ақуыздың N-ұшында локализацияланған және оның аргинин қалдықтары метилденеді [3]. Адамдар мен өсімдіктерде gag домені фибрилляринді ядроларға аударуға қатысады. РНҚ-мен әрекеттесетін РНҚ байланыстыратын домен [4] және 56 (Nop56) ядро ақуызымен әрекеттесетін α -спиральды домен сәйкесінше фибрилляриннің ортасында және С соңында локализацияланған. РНҚ байланыстыратын домен және α -спиральды домен бірге аймаққа ұқсас Ado-Met-тәуелді метилтрансфераза (Mтаза) құрайды. Эволюциялық тұрғыдан консервативті мтаза тәрізді аймақта мотивтерді байланыстыратын s-аденозилметионин (SAM, метионин тобының доноры) бар және 2'-о-рибозаны метилизациялау үшін қажет Мтазаны кодтайды [4].

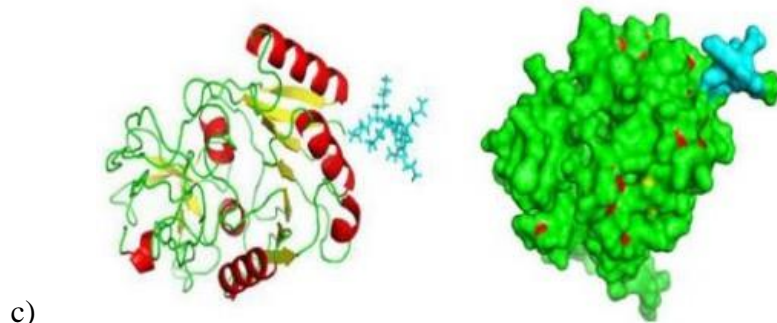
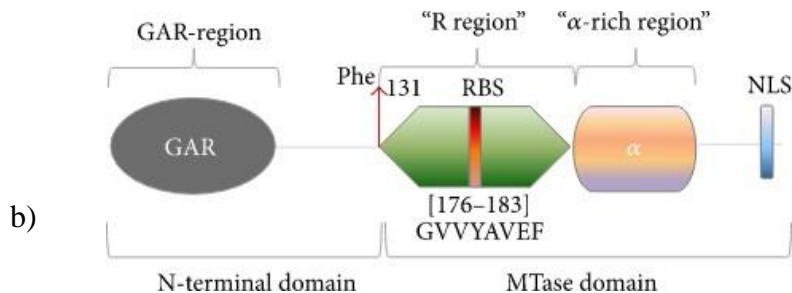
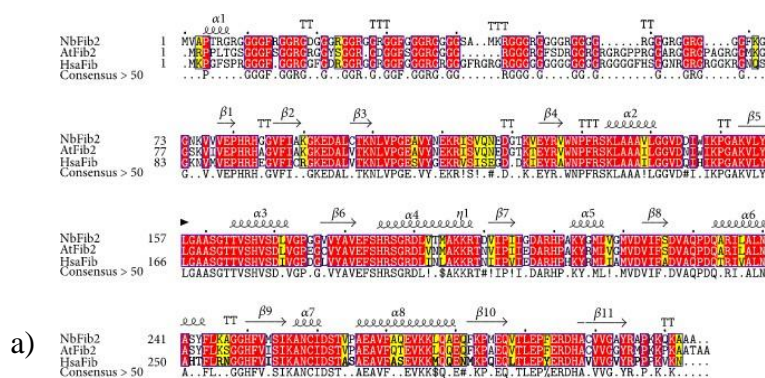
РНҚ-ға дейінгі өңдеудегі, модификациядағы және рибосомаларды құрастырудағы функцияларын түсінумен қатар фибрилляринді зерттеу оның вирус кодтайтын ақуыздармен әрекеттесуіне және осы өзара әрекеттесулердің вирустық қозғалыс пен инфекциядағы рөліне бағытталған. Мысалы, Мелен және т.б. фибрилляриннің а H3N2 тұмауының кіші түрінің вирусында 1 (NS1) құрылымдық емес ақуызбен 2 (NLS2) ядролық локализацияның С-терминалды сигналы арқылы әрекеттесетіні анықталды [5]. Ким және т.б. фибрилляриннің алыс қашықтыққа қозғалуға және жержаңғақ розеткасының вирусын (GRV) жұқтыруға қатысатындығы анықталды [6]. Атап айтқанда, GRV-дегі ORF3 (қозғалыс ақуызы) CBs арқылы ядроға ауысады, ядродағы фибрилляринмен байланысады, цитоплазмаға ауысады және соңында цитоплазмада вирустық рибонуклеопротеин (vRNP) бөлшектерімен жиналуы ұзақ қашықтыққа және жүйелік инфекцияға көшу болып есептеледі. Сондай-ақ, фибрилляриннің а (PVA) және 2В картоп вирустарында вирустық геноммен (VPg) байланысқан ақуызбен әрекеттесетіні туралы хабарланды.

Фибриллярин2- бұл фибриллалар тұқымдасының ақуызы. Алдыңғы зерттеуде N. benthamiana (NbFib2) фибрилляринінің күріш жолағының вирусын жұқтыру процесінде маңыздылығын анықталды. Алайда, субжасушалы локализация, үш өлшемді құрылым және nbfib2 функциялары толығымен шешілген жоқ. Бұл зерттеудің мақсаттары (1) N. benthamiana (NbFib2) - де фибрилляриннің 2 жасушалы локализациясын анықтау; (2) функционалды домендерді және NbFib2 үш өлшемді (3D) құрылымын болжау; және (3) өсімдіктердің өсуі мен дамуындағы NbFib2 рөлін анықтау.

Нәтиже: Nbfib2 функционалды бағыттары

NbFib2 жоғары гомологты AtFib2 (GenBank aag10153-ке қосылу) және HsaFib (GenBank aah19260-қа қосылу). Олардың 74% - дан астам аминқышқылдарының тізбегі бар (сурет).

1(a)). Акуыз құрамында 314 амин қышқылының қалдықтары (aa) бар және үш функционалды аймақтан тұрады, оның ішінде GAR аймағы, РНҚ байланыстыратын аймақ және α -спиральды аймақ (сурет. 1(b)). GAR аймағында 61 aas (aa8–68) бар және акуыздың N-үшінде орналасқан. РНҚ байланыстыратын аймақ акуыздың ортасында орналасқан (aa131–221), онда РНҚ-мен әрекеттесудің ең мүмкін сайттары aa176-дан aa183-ке дейін болады. А-спиральды аймақ с-үшына жақын орналасқан (aa231–279), содан кейін ядролықлокализация сигналының мотиві (NLS, aa307–313). Айта кету керек, aa131 кодталған пролин NbFib2 акуыздарының көпшілігінде қатысады деп болжануда. РНҚ байланыстыратын аймақ, α -спиральды аймақ және NLS бірге Мтаза доменін құрайды, бұл nbfib2 ядрола локализацияланатынын білдіреді.



Сурет 1

Nbfib2 құрылымдық және функционалды сипаттамалары. (a) nbfib2, AtFib2 және

HsaFib арасындағы аминқышқылдарының тізбегін туралау; (b) nbfib2-дегі функционалды домендердің эскизі; (c) nbfib2 3D моделі, онда α -спираль қызыл түспен, β -жапырақ аймағы сары түспен, кездейсоқ катушкалар аймағы жасыл түспен, ал NLS көк түспен ерекшеленеді.

Сонымен қатар, I-tasser веб-сервері [7] шаблон ретінде PDB ID 1G8SA (фибриллярин *Pyrococcus horikoshii*) көмегімен NbFib2 3D құрылымын болжау үшін қабылданды (1-сурет(c)). Талдау көрсеткендей, NbFib2 α/β ақуыздарға, құрылымдық домендер класына жатады, онда қайталама құрылым ауыспалы α -спиральдар мен β парақтардан тұрады. В-жапырақ сыртқы құрылым болып табылады, ал α -спиральдардың көп бөлігі Ішкі болып табылады. GAR аймағы негізінен шпилька мотивінен тұрады- β . РНҚ байланыстыратын аймақ β - α - β мотивін құрайды және кездейсоқ бүктелген (сурет. 1(c)). С-терминалды аймақ- α -спираль болып табылады және субжасушалы локализацияның сигналдық пептиді сыртта көрсетіледі.

Содан кейін біз cofactor серверін NbFib2 функцияларын, соның ішінде ферменттердің жіктеу нөмірін (EC), ген онтологиясын (GO) және ақуыз құрылымын (PDB ID: 2ірха) қолдана отырып, ақуыз лигандты байланыстыратын сайттарды болжау үшін қолдандық. Талдау көрсеткендей, NbFib2 және адам фибриллярині лигандты байланыстыратын сайттарда EC 0,437 мәніне ұқсас, бұл EC болжау үшін сенімді көрсеткіштер ауқымында. Осылайша, NbFib2 ақуызында адам фибрилляриніне ұқсас 131 қалдықтарында ұқсас белсенді орталық болуы мүмкін. Функцияны болжау сонымен қатар NbFib2-де NLS және ядро мен Кахал денесіне бағытталған бірнеше аймақ бар екенін көрсетті, бұл ақуыздың екі органеллада локализациялануы мүмкін. Бұл болжамдарды DAPI бояуы растады.

Сонымен қатар, ақуыз құрылымын болжаудың сапасы мен сенімділігі бірнеше бағалау әдістерімен бағаланды, соның ішінде C-score, TM-score және орташа квадраттық ауытқу (RMSD). Жоғары C-score болжамның сенімділігінің жоғары дәрежесін көрсетеді және керісінше, ал ақуыз құрылымының болжамы, егер оның с-ұпайы -5-тен 2-ге дейін болса, сенімді болып саналады. Сол сияқты, егер сілтеме құрылымы белгілі болса, құрылымды модельдеудің дәлдігін өлшеу үшін TM және RMSD жиі қолданылады. NbFib2 үшін C болжамды құрылымның балы -2,34, ал TM ұпайлары мен RMSD сәйкесінше 0.44 ± 0.14 және 11.8 ± 4.5 Å тең. Бұл нәтижелер NbFib2 болжамды құрылымы сенімді және анықтамалық ақуыз топологиясына дәл сәйкес келетіндігін көрсетеді (мысалы, PDB ID 1G8SA).

Талдау: NbFib2, AtFib2 және HsaFib- мен бірігіп жоғары гомологияға ие (aa тізбегінің 74%-дан астамы); олардың құрамында үш функционалды Домен бар: GAR домені, РНҚ байланыстыратын домен және α -спираль домені (сурет. 1(a)). Бұл нәтиже nbfib2 ақуыздардың жоғары консервативті отбасы фибрилляриннің ақуыздар тұқымдасына жататынын растады. Алдыңғы әдеби көздерде gar доменінде әрқашан ядролардың локализациясы сигналы және жасушалардағы фибрилляриннің мақсатты сайты болады деп болжалды [8]. Сонымен қатар, POA (PLSV) полувалентті вирусында үштік ген блогының (TGBp1) бірінші геномымен кодталған гордевирустық қозғалыс ақуызы ATFIB-мен өзара әрекеттеседі, ол ATFIB gar домені мен TGBp1-нің N-соңы арасында жүреді [9]. Осылайша, gar аймағы вирустық кодталған ақуыздармен байланысу үшін nbfib2 үшін ықтимал Домен бола алады. РНҚ байланыстыратын домен ядрода фибрилляриннің болуы үшін қажет [4]. Fib ақуыздар тұқымдасының с-терминалды аймағында әрқашан екі қысқа тізбек болады: бір тізбек α -спираль құрылымын құрайды, ол Фибрилляринді CBs - ке бағыттайды [1] және Nor56-мен тікелей әрекеттеседі; екіншісі-NLS. Бұл домендердің ерекшелігі nbfib2 жасуша ядросында локализациялануы керек, бұл NbFib2 субклеттік локализациясының нәтижелеріне сәйкес келеді. РНҚ байланыстыратын аймақ және С- терминалды аймақ фибрилляриннің метилтрансфераза белсенділігіне жауап беретін метилтрансфераза (Mтаза) тәрізді консервативті домен құра алады.

Үш өлшемді құрылым ақуыздардың функциялары мен локализациясын және олардың басқа молекулалармен әрекеттесуін анықтауда өте маңызды. Гомологияны модельдеу-ақуыздардың үш өлшемді құрылымын болжаудың ең танымал тәсілдерінің бірі.

Гомологияны модельдеу сұрау реттілігіне сәйкес келетін шаблондар тізбегін анықтауды қажет етеді. Үлгіні PSI BLAST сияқты гомологиялық іздеу бағдарламалары арқылы PDB деректер базасында дәйекті немесе кеңейтілген тұқым әдістерін қолдана отырып анықтауға болады.

COFACTOR сервері ақуыздарды функционалды болжау үшін көптеген аннотацияларды ұсынады. Бұл алгоритмнің маңызды артықшылықтарының бірі-ғаламдық және жергілікті құрылымдық салыстырулардың үйлесуі. Сонымен қатар, COFACTOR жаһандық құрылымның ұқсастығын ескеретіндіктен, ол тек жергілікті қалта салыстыруларына негізделген әдістерге қарағанда сенімді.

Өсімдік вирустық ақуыздарының маңызды ерекшелігі-фибрилларинмен әрекеттесу және бұл ерекшелік бір немесе екі таксономиялық топтармен шектелмейді. Өсімдік вирустары фибрилляринді хосттың дамуының әртүрлі кезеңдерінде олардың инфекциясын жеңілдету үшін жалдай алады, бұл хосттың қорғаныс реакциясын тежейді.

N. benthamiana модельдік өсімдік және көптеген өсімдік вирустарының қожайыны болғандықтан, N. benthamiana-да nbfib2 функцияларын, генетикасын және үш өлшемді құрылымын зерттеу хосттар мен вирустардың өзара әрекеттесуін түсіну үшін маңызды.

ҚОЛДАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. S. Snaar, K. Wiesmeijer, A. G. Jochemsen, H. J. Tanke, and R. W. Dirks, “Mutational analysis of fibrillarin and its mobility in living human cells,” *The Journal of Cell Biology*, vol. 151, no. 3, pp. 653–662, 2000.
2. J. P. Aris and G. Blobel, “cDNA cloning and sequencing of human fibrillarin, a conserved nucleolar protein recognized by autoimmune antisera,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 88, no. 3, pp. 931–935, 1991.
3. Q. Liu and G. Dreyfuss, “In vivo and in vitro arginine methylation of RNA-binding proteins,” *Molecular and Cellular Biology*, vol. 15, no. 5, pp. 2800–2808, 1995.
4. V. V. Barygina, V. P. Veiko, and O. V. Zatsepin, “Analysis of nucleolar protein fibrillarin mobility and functional state in living HeLa cells,” *Biochemistry*, vol. 75, no. 8, pp. 979–988, 2010.
5. K. Melén, J. Tynell, R. Fagerlund, P. Roussel, D. Hernandez-Verdun, and I. Julkunen, “Influenza A H3N2 subtype virus NS1 protein targets into the nucleus and binds primarily via its C-terminal NLS2/NoLS to nucleolin and fibrillarin,” *Virology Journal*, vol. 9, no. 1, article 167, 13 pages, 2012.
6. S. H. Kim, E. V. Ryabov, N. O. Kalinina et al., “Cajal bodies and the nucleolus are required for aplant virus systemic infection,” *The EMBO Journal*, vol. 26, no. 8, pp. 2169–2179, 2007.
7. A. Roy, A. Kucukural, and Y. Zhang, “I-TASSER: a unified platform for automated protein structure and function prediction,” *Nature Protocols*, vol. 5, no. 4, pp. 725–738, 2010.
8. K. T. Pih, M. J. Yi, Y. S. Liang et al., “Molecular cloning and targeting of a fibrillarin homolog from *Arabidopsis*,” *Plant Physiology*, vol. 123, no. 1, pp. 51–58, 2000.
9. M. A. Semashko, I. González, J. Shaw et al., “The extreme N-terminal domain of a hordeivirus TGB1 movement protein mediates its localization to the nucleolus and interaction with fibrillarin,” *Biochimie*, vol. 94, no. 5, pp. 1180–1188, 2012.

УДК 579

ПРОБИОТИКТЕРДІҢ СПЕЦИФИКАЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІН АНЫҚТАУ

Муса Бақытнұр Сағадатқызы

Bakonyam0997@mail.ru

Магистрант 2 курса, ЕНУ им. Л.Н.Гумилева, Нур-Султан, Қазақстан

Научный руководитель – Тулегенова Жанар Асанбаевна