

С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университетінің
ҒЫЛЫМИ ЖУРНАЛЫ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ
Павлодарского государственного университета имени С. Торайгырова

ПМУ ХАБАРШЫСЫ

Химия-биологиялық сериясы
1997 жылдан бастап шығады



ВЕСТНИК ПГУ

Химико-биологическая серия
Издается с 1997 года

ISSN 1811-184X

№ 3 (2019)

Павлодар

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Павлодарского государственного университета имени С. Торайгырова

Химико-биологическая серия

выходит 4 раза в год

СВИДЕТЕЛЬСТВО

о постановке на учет, переучет периодического печатного издания,
информационного агентства и сетевого издания
№ 17024-Ж

выдано

Министерством информации и коммуникаций Республики Казахстан

Тематическая направленность
публикация материалов в области химии, биологии, экологии,
сельскохозяйственных наук, медицины
Подписной индекс-76134

Бас редакторы – главный редактор

Ержанов Н. Т.

д.б.н., профессор

Заместитель главного редактора

Ахметов К. К., *д.б.н., профессор*

Ответственный секретарь

Камкин В. А., *к.б.н., доцент***Редакция алқасы – Редакционная коллегия**

Альмишев У. Х.,	<i>д.с-х.н., профессор;</i>
Амриев Р. А.,	<i>д.х.н., профессор, академик НАН РК;</i>
Байтулин И. О.,	<i>д.б.н., профессор, академик НАН РК;</i>
Бейсембаев Е. А.,	<i>д.мед.н., профессор;</i>
Бексентов Т. К.,	<i>д.с-х.н., профессор;</i>
Имангазинов С. Б.,	<i>д.мед.н., профессор;</i>
Касенов Б. К.,	<i>д.х.н., профессор;</i>
Катков А. Л.,	<i>д.мед.н., профессор;</i>
Лайдинг К.,	<i>доктор (Германия);</i>
Литвинов Ю. Н.,	<i>д.б.н., профессор (Россия);</i>
Мельдебеков А. М.,	<i>д.с-х.н., профессор, академик НАН РК;</i>
Мурзагулова К. Б.,	<i>д.х.н., профессор;</i>
Панин М. С.,	<i>д.б.н., профессор;</i>
Шаймарданов Ж. К.,	<i>д.б.н., профессор;</i>
Шенброт Г. И.,	<i>доктор, профессор (Израиль);</i>
Шокубаева З. Ж.	<i>(технический редактор).</i>

За достоверность материалов и рекламы ответственность несут авторы и рекламодатели

Редакция оставляет за собой право на отклонение материалов

При использовании материалов журнала ссылка на «Вестник ПГУ» обязательна

«ХИМИЯ» СЕКЦИЯСЫ**Кенжегазы М. К., Калиева А. Б., Мапитов Н. Б.**

Тұзды көлдер және оның химиялық құрамы6

Сүйіндіков М. М., Мейрам Н. Д.Алюминий электролизерінде гатб жүйесін қолдану кезінде
глиноземнің еру жылдамдығын зерттеу..... 13**«БИОЛОГИЯ» СЕКЦИЯСЫ****Қабдолла М. О., Жангазин С. Б.,****Калиева А. Б., Кукушева А. Н.**РНҚ-интерференциясы модификацияланған
вирустық ақуыз супрессорының тотығу стрессі
ферменттерінің белсенділігіне әсері.....22**Қаиржан А. З., Калиева А. Б.**

Халықтың демографиялық қартаюын зерттеу мәселесі 34

Нұртай Ф. С., Калиева А. Б., Мапитов Н. Б.Қоршаған орта факторларының балалар
мен жасөспірімдер денсаулығына әсері.....42**«АУЫЛШАРУАШЫЛЫҚ» СЕКЦИЯСЫ****Исаева К. С., Машрапова А. Д.**Балқымыз – ұлттық сүтқышқылды сусының жаңа түрін өндіру
технологиясын әзірлеу.....49**Смагулова З. Т., Туганова Б. С., Мухитденова Ә. М.**Ешкі сүтінен алынған ақуызды өнімнің сақтау
қабілетілігіне әсер ететін факторлар.....57**Хожанов Н. Н., Даулетбай С.**Ауыл шаруашылығы жерлерін пайдалану тиімділігін
бағалау (Қазақстан Республикасы Шу-Талас
бассейнінің мысалында) 65

Авторларға арналған ережелер..... 78

Жарияланым этикасы..... 85

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ «ХИМИЯ»

Кенжегазы М. К., Калиева А. Б., Мапитов Н. Б. Соленые озера и их химический состав	6
Суюндиков М. М., Мейрам Н. Д. Исследование скорости растворения глинозема при применении системы АПГ в электролизере алюминия	13

СЕКЦИЯ «БИОЛОГИЯ»

Қабдолла М. О., Жангазин С. Б., Калиева А. Б., Кукушева А. Н. Влияние вирусного белка супрессора РНК-интерференции на активность ферментов окислительного стресса	22
Қаиржан А. З., Калиева А. Б. К вопросу изучения демографического старения населения	34
Нұртай Ф. С., Калиева А. Б., Мапитов Н. Б. Влияние факторов окружающей среды на здоровье детей и подростков	42

СЕКЦИЯ «СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО»

Исаева К. С., Машрапова А. Д. Разработка технологии производства нового вида национального кисломолочного напитка – балкумыс	49
Смагулова З. Т., Туганова Б. С., Мухитденова Ә. М. Факторы, влияющие на хранимоспособность белкового пробиотического продукта из козьего молока	57
Хожанов Н. Н., Даулетбай С. Оценка эффективности использования сельскохозяйственных земель (На примере Шу-Таласского бассейна Республики Казахстан)	65
Правила для авторов	78
Публикационная этика	85

CONTENTS

SECTION «CHEMISTRY»

Kenzhezazy M. K., Kaliyeva A. B., Mapitov N. B. Salt lakes and their chemical composition	6
Suyundikov M. M., Meiram N. D. Investigation of the rate of dissolution of alumina when using the AAF system in an aluminum electrolyzer	13

SECTION «BIOLOGY»

Kabdolla M. O., Zhangazin S. B., Kalieva A. B., Kukusheva A. N. The effect of the viral protein the RNA interference suppressor on the activity of oxidative stress enzymes	22
Kairzhan A. Z., Kaliyeva A. B. Demographic patterns of population aging	34
Nurtay G. S., Kaliyeva A. B., Mapitov N. B. The influence of environmental factors on the health of children and adolescents	42

SECTION «AGRICULTURE»

Issaeva K. S., Mashrapova A. D. Development of technology for the production of a new type of national sour-milk drink – balkumis	49
Smagulova Z. T., Tuganova B. S., Mukhitdenova A. M. Factors affecting the storage capacity of a protein probiotic product from goat's milk	57
Khozhanov N. N., Dauletbay S. Assessment of the efficiency of agricultural land use (On the example of the Shu-Talas basin of the Republic of Kazakhstan)	65
Rules for authors	78
Publication ethics	85

СЕКЦИЯ «БИОЛОГИЯ»

FTAMP 62.33.29

**М. О. Қабдолла¹, С. Б. Жангазин²,
А. Б. Калиева³, А. Н. Кукушева⁴**

¹магистрант, Химиялық технологиялар және жаратылыстану факультеті, С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар қ., 140008, Қазақстан Республикасы.

²PhD, доценттің м.а., Жаратылыстану ғылымдар факультеті, Л. Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан қ., 010008, Қазақстан Республикасы.

³б.ғ.к., профессор, Химиялық технологиялар және жаратылыстану факультеті, С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар қ., 140008, Қазақстан Республикасы.

⁴PhD, қауымд. профессор, Химиялық технологиялар және жаратылыстану факультеті, С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар қ., 140008, Қазақстан Республикасы.

e-mail: ¹madiana.k@mail.ru; ²zhangazin_sayan@mail.ru;

³ainanurlina@mail.ru; ⁴a.kukusheva@mail.ru

**РНҚ-ИНТЕРФЕРЕНЦИЯСЫ МОДИФИКАЦИЯЛАНҒАН
ВИРУСТЫҚ АҚУЫЗ СУПРЕССОРЫНЫҢ ТОТЫҒУ
СТРЕССИ ФЕРМЕНТТЕРІНІҢ БЕЛСЕНДІЛІГІНЕ ӘСЕРІ**

Мақала тотығу стрессінің ферменттеріне РНҚ-интерференциясының модификацияланған вирустық супрессорының әсерін зерттеуге арналған. Зерттеу жұмысын жүргізу үшін N.Benthamiana өсімдіктері өсіріліп, инокуляциянды материалды дайындау үшін E. coli XL-10 линиясының компетентті клеткалары мен TBSV конструкциялары бар плазмидалар алынды. Зақымдалуы инокуляциянды материалды 50 мл көлемінде өсімдіктердің 2 жапырағына құйып, саусақпен уқалау арқылы жүргізілді. Зақымдалудан соң 7 күн өткеннен соң өсімдіктердің сыртқы көрінісі қарастырылды. Сонымен қатар тотығу стрессі ферменттерінің белсенділігі электрофорез in gel әдісі арқылы анықталды, яғни ферменттердің жоғары белсенділігін көрсетті. Нәтижелері сурет

асқын тотығының көп мөлшерде болуы, каталаза ферментінің белсенділігіне, ал альдегидоксидаза ферментінің белсенділігі сурет асқын тотығының жиналуына себепкер болатынын көрсетті.

Кілтті сөздер: Nicotiana Benthamiana, РНҚ-интерференция, TBSV, каталаза, альдегидоксидаза, тотығу стрессі.

КІРІСПЕ

Өсімдіктерде РНҚ-интерференция жасушаларды РНҚ және ДНҚ вирустарынан қорғауда маңызды рөл атқаратыны белгілі [1]. Көптеген өсімдіктер вирустары спецификалық ақуыздарды кодталады. Солардың бірі – Tombusvirus P19 негізгі ақуызы ретінде белгілі РНҚ-интерференцияны басушы P19 [4, 5]. Алғашқы зерттеулер P19 ақуызының РНҚ репродукциясы, қозғалысы және вирустың векторлық трансмиссия процестеріне қатысатынын көрсетті [6]. Кейіннен P19 инфекция симптомдарын дамыту үшін қажетті маңызды патогенді фактор екені анықталды [7]. N. Benthamiana өсімдіктеріндегі жүйелі инфекция барысында вирустық РНҚ қорғауда TBSV P19-дың шешуші рөл атқаратынын көрсетті, сондай-ақ зерттеулер РНҚ-интерференцияны блоктау процесінде вирустық супрессор жұмысының мүмкін болатын молекулалық механизмінің алғашқы түсіндірмесін ұсынды [8].

Соңғы зерттеулерде вирустық ақуыз супрессорының тотығу стрессі ферменттеріне әсері көрсетілген, яғни N. Benthamiana өсімдігінің жай өсімдіктеріне жасаған зерттеулерде альдегидоксидазаның 3 изоформасы да белсенділік танытқаны анықталды [3]. Осыған орай зерттеу жұмысының мақсаты тотығу стрессі ферменттеріне РНҚ-интерференциясының модификацияланған вирустық супрессорының әсерін анықтау болып табылады.

НЕГІЗГІ БӨЛІМ

Зерттеу объектілері болып N. Benthamiana өсімдігі алынды. Өсімдіктер зерттеу жұмысында коректі топырақпен арнайы жабдықталып, жарықтандыру жүйесі жасалған арнайы ортада өсірілді. Өсімдіктердің дамуы мен өсуі үшін қолайлы жарықтандыру жүйесі (2700 бен 6400 К спектр) аралығы 16 сағаттық күн мен 8 сағаттық түнді қамтитын лампалардың орнатылуымен жасалды. Тұқымдар алдымен суландырылған құмыраларға отырғызылып, 10–12 күннен кейін жаңа құмыраларға отырғызылды. Өсімдіктер өсірілген орта ауасының ылғалдылығы – 75–80 %, температурасы – 23–27 °С.

Өсімдіктерді инокуляциялау үшін E. coli XL-10 линиясының компетентті клеткалары С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінен, ал TBSV конструкциялары бар плазмидалар Herman B. Scholthof-тан алынды.

Зерттеу жұмыстары келесі ретпен орындалды:

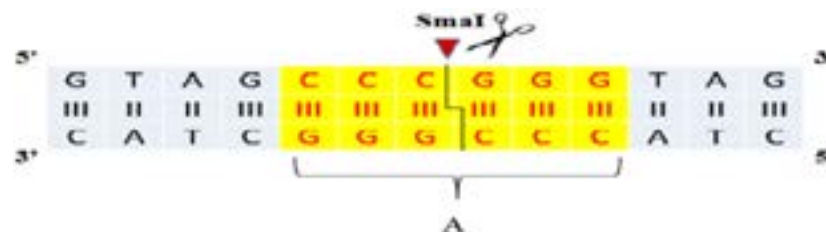
– *N. Benthamiana* өсімдіктерін өсіру;
 – Инокуляциянды материалды дайындау мен өсімдіктерді зақымдау;
 – Өсімдіктер жапырақтарындағы сутектің асқын тотығын анықтау және ферменттердің активтілігін электрофорез жүргізу арқылы анықтау.

Инокуляциянды материалды дайындау. Ең алдымен *E. Coli*-дің компетентті клеткаларын дайындауға XL-10 линиясының колониясы қатты агарлы ортадан домалақ формалары таңдалып, олар Luria-Bertani сұйық ортасында өсірілді. Сосын бактериялары бар қоректік орталарды пробиркадан құрамында 100 мл жана қоректік ортасы бар колбаға құйып, 6–10 сағатқа шейкерге инокуляцияланды. Көбейген бактериялардың қоректік ортасын салқындату үшін 15 минутқа мұзды ыдысқа салынды. Суытылған бактериялар ортасын центрифуга көмегімен тұндырылды. Тұндырылған бактерияларды 40 мл стерильді 0,1 М кальций хлоридінде қайта суспензиялап, мұзда 30 минутқа инокуациялайды. Кейін қайтадан центрифугада тұндырылды. Бұл тұнба материалды клеткалардың қатырудан соң тіршілігін сақтау үшін 6 мл 0,1 М кальций хлориді мен 15 % глицерин қосылған ерітіндіде қайтадан суспензиялейді. Сосын компетентті клеткалар мұздатқыш камерада – 80 °C-та сақталды.

E. coli XL-10 линиясының компетентті клеткаларының трансформациясы жүргізілді. Ол үшін плазмидалардың 5 мкл мөлшерін 30 минут мұзда ұстайды. Сосын бактериялары бар пробиркалар 42 °C-қа 90 секундқа термошейкерге, кейін мұзда 5 минут шамасында инокуацияланады. Кейін бактериальды клеткалардың әр пробиркасына 1,5 мл стерильді, таза LB қоректік ортасы қосылып, оларды пробиркаларға 1 сағатқа оттек жақсы жеткізілуі үшін тұрақты араластырылып, 37 °C-та инкубируется. Инкубациядан соң өсірілген бактерияларды центрифуга көмегімен клеткалардың зақымдалуын болдырмау үшін тұндырып, сосын пробиркалардың түбінде тұнған бактерияларды қатты, құрамында ампициллин бар селективті агарлы LB қоректік ортасына ауыстырылды. Осы қоректік орталарды 14–16 сағат бойы 37 °C-та зарарсыздандырылған күйде инокуацияланды. Сосын оқшауланған трансформирленген, ластанбаған домалақ колонияларды ампициллин қосылған 100 мл LB қоректік ортасына көшіріліп, 14-16 сағатқа орбитальды термошейкерге инокуацияланды. Алынған материалды клеткалар центрифугацияланды. Алынған тұнбаны стерильді дистилденген суда қайта суспензияланды. *E. coli* XL-10-ның трансформирленген клеткалары –20 °C-та мұздатқыш камерада сақталды.

Плазмидтік ДНҚ-ның трансформирленген *E. Coli* клеткаларынан бөліп алу GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Fermentas, EU) коммерциялық жиынтығының протоколы көмегімен жүзеге асырылды. Плазмидтік ДНҚ-ның рестрикциясы үшін Thermo Fisher Scientific фирмасының SmaI restriction

enzyme жиынтығы пайдаланылды. Сақиналы ДНҚ молекулаларының линеаризациясы үшін арнайы реакциялық ерітінді дайындалды. Алынған ерітінді 1 сағатта 30 °C температурасында ұсталды. Бұдан кейін плазмидтік ДНҚ-ның линеаризациясы 1 % агарозалық геледе қарастырылды. SmaI эндонуклеазасының рестрикцияны белсенділік сайты 1 суретте төменде көрсетілген.



Сурет 1 – SmaI ферментінің белсенділік сайты.

Өсімдіктерді зақымдау. Линеаризациядан өткен плазмидтік ДНҚ-ны рестрикциядан тазарту үшін фенол-хлороформ стандартты әдісі қолданылды. Тазартылған ДНҚ ары қарай мұздатқыш камерада –20 °C-та сақталды. РНҚ транскриптердің *in vitro* арқылы синтезделуі линеаризациядан өткен TBSV вирусының кДНҚ-сымен T7 polymerase transcription Kit жиынтығының протоколымен біраз өзгерістер енгізіліп жүргізілді. Реакция қоспасын термошейкерде 1–2 сағатта 37 °C-та ұстаған соң синтезделген РНҚ транскриптері 1 % агарозды гель қою әдісі арқылы анықталды.

Транскриптермен зақымдау үшін трансген өсімдіктері алдын ала өсірілді. P19 ART ақуыз-супрессорының көмегімен РНҚ-интерференциясының тежелуі негізінде, яғни генді-инженериялық конструкция ко-культивация арқылы жасалған *N. benthamiana* трансформация көмегімен P19 ART ақуыз-супрессорын экспрессиялайтын трансгенді өсімдіктері алынды [2].

Өсімдіктерді транскриптермен зақымдау үшін флаконға 150 мкл транскрипттен, 450 мкл фосфатты буфер мен корбарандумнан тұратын 600 мкл ерітінді дайындалды. Сосын әр өсімдіктің 2 жапырағына 50 мкл ерітіндіні құйып, саусақпен уқалау әрекеті бойынша зақымдау жасалды.

Өсімдіктер жапырақтарындағы сутектің асқын тотығын анықтау. Алдымен 50 мл ыдысқа 50 мг ДАБ және 45 мл дистилденген су қосылды, кейін ДАБ-тың еруі үшін рН HCl-дың көмегімен 3,0 көрсеткішіне дейін жеткізілді. Осы ыдыстарды алюминий фольгасына оралды, себебі ДАБ жарыққа өте сезімтал. Сосын 10 mM ДАБ-ы бар ерітіндіні дайындау үшін үстінен 25 µl Tween 20 (0.05 %) v/v пен 2.5 ml 200 mM Na₂HPO₄ қосылды.

Өсімдіктерден TBSV вирусымен зақымдалған және зақымдалмағандарын тандап алып, жапырақтарынан көлемі, формасы бірдей дискілер бір аймақтан кесіп алынды. Оларды ДАБ қосылған, қосылмаған флакон ыдыстарға салынды. Сосын вакуумдық насосымен көмегімен ыдыстағы ауа толығымен жойылды. Бұл жапырақ пластинкаларының қою және түссіз күйге айналуынан байқалды. Осы әрекет ауа көпіршіктері жойылғанға дейін жасалды. Бұдан соң шейкерге 4–5 сағатқа инкубацияланды, берілген уақытта сутектің асқын тотығы ең жоғары деңгейде бөлініп, ДАБ-пен байланысады. Инкубациядан соң фольга алынып, ДАБ ерітіндісі жапырақтарды түсірмей төгіліп, ағартушы ерітіндісі этанол: ацетон: глицерол=3:1:1) құйылды. Осы ыдыстар 90–95 °С-тық су моншасына 15 минутқа қойылды. Бұл жапырақтардағы хлорофиллді ағартады, бірақ сутектің асқын тотығымен байланысқа түскен ДАБ-тын қоңыр перципитатын қалдырады. Жапырақтың өзгеруіне байланысты, уақытты ± 5 мин-қа өзгертуге болады. 15 ± 5 минут қайнатқаннан кейін, ағартушы ерітіндіні таза ағартуші ерітіндіге ауыстырып, 30 мин-қа тұра тұруына мүмкіндік береміз. Бұл үлгілер 4 °С-та 4 күн бойы сақтауға болады.

N. benthamiana өсімдігінің жапырақтарын электрофорез жасау үшін, жапырақтарын өсімдік сабағынан кесіп, салмағын өлшеп, фарфор ыдыста, мұзда салқындатылған экстракциялайтын буфер көмегімен гомогенизацияланды. Гомогенизациядан соң барлық үлгілер микроцентрифугалық құралдарға орын ауыстырып, 4 °С-та 20 минут бойы центрифугацияланды. Центрифугаланған үлгілердің беткі мөлдір қабатын жаңа пробиркаларға ауыстырылады.

Ферменттер активтілігін *in gel* әдісі арқылы анықтау. Белоктарға нативті гель электрофорез қою үшін бөлуші және концентрлеуші гель дайындалды. Олар алдын-ала жасалған № 3, № 4, № 5 және № 6 ерітінділері көмегімен жасалды. № 3 (рН 8,5) ерітінді құрамы: ТРИС – 11,47 г, ал рН көрсеткіші тұз қышқылын қосу арқылы 8,5-ке дейін жеткізіліп, оның көлемі 100 мл-ге дейін дистилденген сумен толтырылды. № 4 (рН 6,9) құрамы: ТРИС – 1,92 г, ал рН-ы 6,9-ға дейін фосфор қышқылын қосу арқылы жеткізіліп, 100 мл-ге дейін дистилденген су қосылды. № 5 ерітінді құрамы: акриламид – 38 г, BIS акриламид – 2 г, ал көлемі 100 мл-ге дейін дистилденген сумен жеткізілді.

Астыңғы немесе бөліп шығарушы гель 10 мл-ге № 3 және № 5 көлемі 2,5 және 1,9 мл болатын етіп араластырылып, үстінен 150 мкл 10 % аммоний персульфаты мен 15 мкл TEMED гелдің полимеризациясы үшін қосылды.

Үстіңгі немесе концентрлеуші гель 5 мл-ге жасалып, құрамында 1,25 и 2,5 мл көлеміндегі № 4 және № 6 ерітінділері мен 10 % 80 мкл аммоний персульфаты мен 8 мкл TEMED гелдің полимеризациясы үшін қосылды.

Алдын-ала жинақталған шыны мини-камераға (Tetra cell, BioRad) әуелі астыңғы, немесе бөлуші гель құйылып, сосын үстінен дистилденген су бетінің түзелуі мен кеуіп қалмауы үшін құйылады. Астыңғы гелдің полимеризациясынан соң, дистилденген судың үстіне концентрлеуші немесе үстіңгі гель құйылды. Үстіңгі гель құйылған соң көпіршіктердің түзілуіне жол бермей адырды келесіде айшықтардың түзілуі үшін гелдің үстіне мұқият кигізеді. Дайын болған екі қабатты гель мини-камера вертикальды электрофорез камерасына орналастырылды.

Электрофорез үшін салқындатылған үстіңгі және астыңғы электродтық буферлер пайдаланылды. Құрамында ТРИС-тің 4,56 г, глициннің 3,8 г бар 1 л көлемдегі үстіңгі буферде тұз қышқылының көмегімен рН 8,8 көрсеткішіне жеткізілді, ал ТРИС 7,6 г мөлшерінде бар астыңғы буферде тұз қышқылы көмегімен рН 7,4 көрсеткішіне жеткізілді.

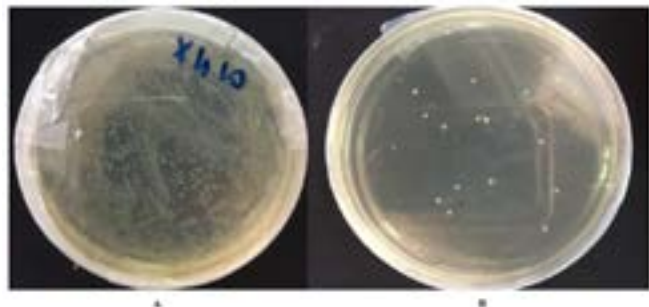
Компоненттердің дистелденген суында осы буферлер магнитті араластырғышта дайындалды. Алдын ала дайындалған үлгілер 4:1 қатынасында бояумен араластырылып, полиакриламидті гелге құйылды. Электрофорез 110 В және 50мА-де 2 сағат бойы жасалды. Белоктардың форезіне дейін 90 В ток көзімен бос гелге форез 20–30 минутта жасалды, бұл қалдықтардан тазарту үшін қажет.

Нативті электрофорез аяқталған соң альдегидоксидаза ферментінің белсенділігін анықтау үшін 3 рет дистилденген сумен жуып, реакциянды қоспада ұсталды. 20 мл-дегі құрамы: 2,5 мл 50 мМ ТРИС HCl (рН 7,4); 15 мг ванилин, 10 мг индол-3-карбоксальдегид, 5 мг thiazolyl blue tetrazolium bromide (МТТ), 1 гранула phenazine methosulfate (PMS). Көлемі 20 мл-ге дистилденген судың көмегімен жеткізілді. Гель субстратта қараңғылықта 40 минут бойы 37 °С-та боялған жолақтардың пайда болғанына дейін инкубацияланды. Альдегидоксидазаның супероксид аниондарын өндіру үшін PMS реакциянды қоспадан алынды.

Нативті гелдегі каталаза ферментінің активтілігін анықтау үшін 2 компонентті субстрат дайындалды: біреуінде 2 % феррицианид (potassium ferricyanide), екіншісінде 2 % темір хлориді (ferric chloride) болды. Электрофорезден кейін пайда болған гель үлгілері 3 рет дистелденген суда 5 минут бойы шайылды, сосын 10 минут бойы 0,003 % сутектің асқын тотығының ерітіндісінде инкубацияланды, одан соң жоғарыда айтылған 2 ерітіндіде болды. Гельде күнгірт түске боялған жолақтар пайда болған соң дистелденген сумен шайылды.

Тотығу стрессінің ферменттеріне РНК интерференциясының вирустық супрессордың әсерін анықтауда жоғарыда айтылған жұмыстар жасалды. Инокуляциянды материалды дайындау кезінде *E. coli* бактерияларының

XL-10 линиясының компетентті клеткалары пайдаланылды. *E. coli* XL-10 линиясының компетентті клеткаларының трансформациясы жылу шок әдісі бойынша плазмидалар бактерия клеткаларына тасымалданды. Алынған бактериялар құрамында ампициллин антибиотигі бар Luria-Bertani сұйық ортасында көбейтіліп, агарлы қатты ортаға ауыстырылды.



Сурет 2 – *E. coli* бактерияларының агарлы LB ортасына себілген XL-10 линиясының трансформирленген клеткалары: А – компетентті клеткалар; В – TBSV вирусының Р-19 к-ДНК-сымен трансформирленген клеткалар

Сосын трансформирленген *E. coli* клеткаларынан плазмидтік ДНК-ны бөліп алу GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Fermentas, EU) коммерциялық жиынтығының протоколы көмегімен жүзеге асырылды. Сосын оны агарозалық геледе анықталып, бөлініп алынды. Плазмидтік ДНК-ны линерализациясы үшін Thermo Fisher Scientific фирмасының SMA1 restriction enzyme жиынтығы пайдаланылды. Линеаризацияланған плазмидтік ДНК-ны рестрикциядан кейін фенол-хлороформ-изоамил спиртінің 500 мкл-ін 25:24:1 (AppliChem, Germany) тазартылып алынды.

Кейін тазартылған, линеаризацияланған TBSV-дің кДНК-сы *in vitro* жағдайында РНК транскриптілеріне T7 РНК-полимеразасының (T7 RNA-polymerase Kit) коммерциялық жиынтығының протоколымен көмегімен синтезделіп, осы синтезделген кДНК молекулалары өсімдіктерді зақымдау үшін пайдаланылды.

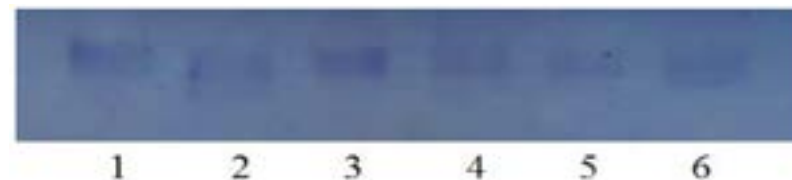
Зерттеу жұмысында *N. Benthamiana* өсімдігінің бақылау, трансген 1 (генді тасымалдау нәтижесінде пайда болған трансген өсімдіктерінің бірінші тұқымы) және трансген 2 (бірінші ұрпақ өсімдіктерінің ұрпағы – екінші ұрпақ) өсімдіктері пайдаланылды. Трансген өсімдіктерінің геномдық ДНК-сында р-19 белок супрессорының гені орналасқан. *N. benthamiana* өсімдіктерінің жапырақтары

инокуляциянды сұйықтықпен зақымдалды. Алдымен TBSV вирусының өсімдікке әсерін анықтау үшін зақымдалған соң 7 күн өткеннен кейінгі сыртқы көрінісі бақыланды. Бақылау кезінде өсімдіктердің сау өсімдіктерге қарағанда өсіп-дамуы тежелген, үстінгі жапырақ пластинкаларының құсырылуы, астыңғы және орта ярустағы жапырақ пластинкаларының солуы; апикальды некроздың дамығаны айқын көрінді (3 сурет).



Сурет 3 – Вируспен зақымдалудан кейін 7 күн өткендегі өсімдіктердің көрінісі: 1 – Вируссыз бақылау, 2 – вируспен зақымдалған бақылау, 3 – вируссыз TP1, 4 – вируспен зақымдалған TP1, 5 – вируссыз TP2, 6 – вируспен зақымдалған TP2

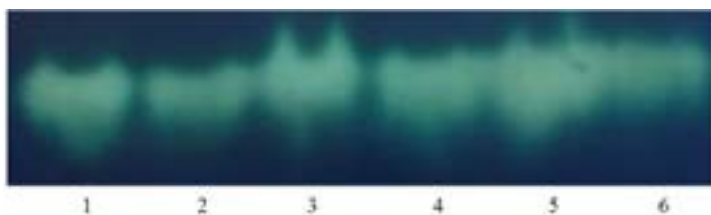
Өсімдіктерді сырттай бақылағаннан кейін оның ішкі көрінісінде ферменттердің жұмысын анықтау үшін нативті гель электрофорез әдісі жүргізілді. Альдегидоксидаза мен каталаза ферменттерінің белсенділігін өсімдіктерді зақымдаған соң 7 күн өткеннен кейін жапырақтарынан алынған үлгіге нативті гель электрофорез жүргізіледі, 7-күндік альдегидоксидазаның активтілігі 4 суретте көрсетілген.



Сурет 4 – Альдегидоксидазаның активтілігі: 1 – Вируссыз бақылау; 2 – Вируспен зақымдалған бақылау; 3 – Вируссыз TP1; 4 – Вируспен зақымдалған TP1; 5 – Вируссыз TP2; 6 – Вируспен зақымдалған TP2

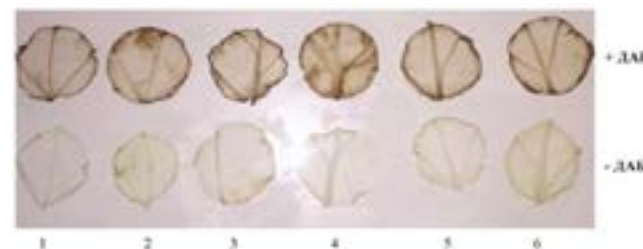
Құрамында молибдені бар альдегидоксидазаның изоформалары оттектің активті формаларының жинақталуында маңызды рөл атқаратынды. TBSV қарсы жауап ретінде өсімдік жапырақтарында, соның ішінде вируспен зақымдалған бақылау, TP1 және TP2-де альдегидоксидазаның үшінші изоформасы белсенділік танытады, ал вируспен зақымдалмаған өсімдіктерде альдегидоксидазаның бірінші және екінші изоформасы белсенділік танытады. *Nicotiana Benthamiana* өсімдігінің жай өсімдіктеріне жасаған зерттеулердегі нәтижелер [4] трансген өсімдіктеріне (TP1 және TP2) жасалған эксперименттерде де байқалды, яғни альдегидоксидазаның 3 изоформасы белсенділік танытты.

Каталазаның активтілігі вируспен зақымдалғаннан кейінгі 7 күн өткен соң өсімдіктерде анықталған. Каталаза өсімдіктерде сутектің асқын тоғының әсерінен пайда болатыны белгілі. Бұл стресс нәтижесінде сутектің асқын тоғын ыдыратуға қажет. Каталаза ферментінің белсенділігі 5 суретте бейнеленген.



Сурет 5 – Каталазаның белсенділігі: 1 – Вируссыз бақылау; 2 – Вируспен зақымдалған бақылау; 3 – Вируссыз TP1; 4 – Вируспен зақымдалған TP1; 5 – Вируссыз TP2; 6 – Вируспен зақымдалған TP2

Каталазаның пайда болуына себепкер жапырақтардағы сутектің асқын тоғының жинақталуын анықтау үшін олардың TBSV вирусымен зақымдалған және зақымдалмағандарын таңдап алып, жапырақтарынан көлемі, формасы бірдей дискілер бір аймақтан кесіп алынды. Өскін жапырақтарындағы сутегі асқын тоғының жинақталуын анықтау үшін вакуумдық насосың көмегімен сутектің асқын тоғының жинақталу мөлшері анықталды. Жапырақ түстерінің қоңырланған жерлері сутегі асқын тоғының ең көп мөлшері орналасқан аймақтар 6 суретте бейнеленген.



Сурет 6 – Сутегі асқын тоғының жинақталуы: 1 – Вируссыз бақылау; 2 – Вируспен бақылау; 3 – Вируссыз TP1; 4 – Вируспен TP1; 5 – Вируссыз TP2; 6 – Вируспен TP2

Суретте көрсетілгендей, үлгілердегі +ДАБ вируспен зақымдалған дискілерде қоңырқай, қою қоңыр түсті болады. Бұл сутегі асқын тоғының вируспен зақымдалған өсімдіктерде көп мөлшерде болатындығын дәлелдейді. Ал, бұл қосылыс альдегидоксидазаның ферментативтік белсенділігінің нәтижесінде жинақталады.

ҚОРЫТЫНДЫ

Жоғарыда көрсетілген нәтижелерге сүйене отырып вируспен зақымдалған бақылау, TP1 және TP2 өсімдіктерінің тотығу стрессінің ферменттері, яғни альдегидоксидаза мен каталаза ферменттерінің белсенділігі жоғары, себебі сутегі асқын тоғының мөлшері көп. Бұл өз кезегінде каталаза ферментінің белсенділігіне, ал альдегидоксидаза ферментінің белсенділігі сутегі асқын тоғының жинақталуына себепкер.

ПАЙДАЛАНҒАН ДЕРЕКТЕР ТІЗІМІ

- 1 Метьюз, Р. Вирусы растений. – М. : 1998. – С. 405–412.
- 2 Жангазин, С. Б. P19 вирустық супрессорының РНҚ-интерференциясын тежеудегі әсерінің молекулалық механизмдері: фил.докторы (PhD) диссертация. – Павлодар, 2017. – 85 б.
- 3 Ергалиев, Т. М. Влияние вирусного белка супрессора на ферменты окислительного стресса: фил.докторы (PhD) диссертация. – Астана, 2016.
- 4 Vargason, J. M, Szitty, G., Burgyan, J., Hall, T. M. Size selective recognition of siRNA by an RNA silencing suppressor. *Cell*, 2003. V. 115. P. 799–811.
- 5 Lakatos, L., Szitty, G., Silhavy, D., Burgyan, J. Molecular mechanism of RNA silencing suppression mediated by p19 protein of tombusviruses//*EMBO J.*, 2004. V. 23. P. 876–884.

6 Yamamura, Y., Scholthof, H. B. Pathogen profile Tomato bushy stunt virus: a resilient model system for studying virus-plant interactions // Mol. Plant Pathol., 2005. V.6. P. 491–502.

7 Shantanu Kumar et al. Tomato bushy stunt virus (TBSV), a versatile platform for polyvalent display of antigenic epitopes and vaccine design // Virology, 2009. V. 388. P. 185–190.

8 Ye, K. Q., Malinina, L., Patel, D. J. Recognition of small interfering RNA by a viral suppressor of RNA silencing // Nature, 2003. V. 426. P. 874–878.

Материал баспаға 16.09.19. түсті.

М. О. Қабдолла¹, С. Б. Жангазин², А. Б. Калиева³, А. Н. Кукушева⁴

Влияние вирусного белка супрессора РНК-интерференции на активность ферментов окислительного стресса

^{1,3,4}Факультет химических технологий,
Павлодарский государственный
университет имени С. Торайгырова,
г. Павлодар, 140008, Республика Казахстан.

²Факультет естественных наук,
Еуразийский национальный
университет имени Л. Н. Гумилева,
г. Нур-Султан, 010008, Республика Казахстан.

Материал поступил в редакцию 16.09.19.

M. O. Kabdolla¹, S. B. Zhangazin², A. B. Kalieva³, A. N. Kukusheva⁴

The effect of the viral protein the RNA interference suppressor on the activity of oxidative stress enzymes

^{1,3,4}Faculty of Chemical Technology and Natural Sciences,
S. Toraihyrov Pavlodar State University,
Pavlodar, 140008, Republic of Kazakhstan.

²Faculty of Natural Sciences,
L. N. Gumilyov Eurasian National University,
Nur-Sultan, 010008, Republic of Kazakhstan.

Material received on 16.09.19.

Статья посвящена изучению влияния вирусного супрессора РНК-интерференции на активность ферментов окислительного стресса. Для проведения исследовательской работы были выращены растения N. Benthamiana, а также для приготовления инокуляционного

материала получены компетентные клетки линии E. coli XL-10 и плазмиды с конструкциями TBSV. Заражение проводилось путем нанесения инокуляционного материала в количестве 50 мл на 2 листьев растений и массажа подушечками пальцев. Через 7 дней после заражения был рассмотрен внешний вид растений. Кроме того, активность ферментов окислительного стресса была определена методом электрофореза in gel, то есть показала высокую активность ферментов. Результаты показали что, большое количество перекиси водорода влияет на активность фермента каталаза, а активность фермента альдегидоксидазы приводит к накоплению перекиси водорода.

The article is devoted to the study of the effect of the viral suppressor of RNA interference on the activity of oxidative stress enzymes. Nicotiana Benthamiana plants were grown for research, and competent E. coli XL-10 cells and plasmids with TBSV constructs were obtained for the preparation of inoculation material. Infection was carried out by applying inoculation material in an amount of 50 ml to 2 leaves of plants and massage with fingertips. 7 days after infection, the appearance of the plants was examined. In addition, the activity of oxidative stress enzymes was determined by in gel electrophoresis, that is, showed a high activity of enzymes. The results showed that a large amount of hydrogen peroxide affects the activity of the catalase enzyme, and the activity of the aldehyde oxidase enzyme leads to the accumulation of hydrogen peroxide.

Теруге 16.09.2019 ж. жіберілді. Басуға 23.09.2019 ж. қол қойылды.

Пішімі 70x100 $\frac{1}{16}$. Кітап-журнал қағазы.

Шартты баспа табағы 8,1

Таралымы 300 дана. Бағасы келісім бойынша.

Компьютерде беттеген Д. А. Жумабекова

Корректорлар: А. Р. Омарова, Д. А. Жумабекова

Тапсырыс № 3582

Сдано в набор 16.09.2019 г. Подписано в печать 23.09.2019 г.

Формат 70x100 $\frac{1}{16}$. Бумага книжно-журнальная.

Усл.п.л. 8,1. Тираж 300 экз. Цена договорная.

Компьютерная верстка Д. А. Жумабекова

Корректоры: А. Р. Омарова, Д. А. Жумабекова

Заказ № 3582

«Toraighyrov University» баспасынан басылып шығарылған

С. Торайғыров атындағы

Павлодар мемлекеттік университеті

140008, Павлодар қ., Ломов к., 64, 137 каб.

«Toraighyrov University» баспасы

С. Торайғыров атындағы

Павлодар мемлекеттік университеті

140008, Павлодар қ., Ломов к., 64, 137 каб.

8 (7182) 67-36-69

e-mail: kereku@psu.kz

www.vestnik.psu.kz