

УДК 57.017.35:633.31/.37

Э.Д. Джангалина*, Б.А. Жумабаева, З.Г. Айташева, Г.Н. Шалтенбай

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

*E-mail: Erika.Dzhangalina@kaznu.kz

Перспективы использования биотехнологических методов для получения биопрепаратов

В статье излагается одно из современных направлений биотехнологии – разработка технологии получения биологически активных веществ. Проведенный биоскрининг фасоли показал, что среди казахстанских сортообразцов имеются образцы, характеризующиеся повышенным содержанием суммарного растворимого белка и лектинов. Изучение каллусообразующей способности данных сортообразцов фасоли позволило определить оптимальные условия получения клеточной биомассы, которая в дальнейшем может быть использована для изучения процессов накопления лектинов и разработки биотехнологических методов их выделения.

Ключевые слова: фасоль, сорт, сортоформы, лектины, белок, каллус, биопрепарат.

Э.Д. Джангалина, Б.Ә. Жұмабаева, З.Ғ. Айташева, Г.Н. Шалтенбай

Биопрепараттарды алу үшін биотехнологиялық әдістерді қолдану перспективасы

Мақалада биотехнологияның қазіргі заман бағыттарының бірі – биологиялық белсенді заттарды алу технологиясы айтылады. Үрмебұршақ сорт үлгілеріне жасалған биоскрининг бойынша қазақстандық сорт үлгілерінің арасында белок және лектин мөлшерлерінің жоғары үлгілері де кездеседі. Аталған үрмебұршақ сорт үлгілерінің каллус түзу қабілеті зерттелініп, клеткалық биомассаны алудың қолайлы жағдайы анықталды. Бұл енді лектиндердің жинақталуы үдерісін және оларды бөліп алу әдістемесін жетілдіруге қолданылады.

Түйін сөздер: үрмебұршақ, сорт, сорт үлгілері, лектин, белок, каллус, биопрепарат.

Dzhangalina E.D., Zhumabayeva B.A., Aytasheva Z.G., Shaltenbay G.N.

Prospects of application of biotechnology methods for new biological preparations

This paper considers one of modern tracks of biotechnology, and namely the development of production technology for biologically active substances. Screening of common bean cultivars and specimens has been performed to show that some of Kazakhstani patterns would be characterized by higher content of total soluble protein and lectins. Study on callus formation properties for these common bean cultivars has allowed to determine optimal conditions for the propagation of cell biomass that would be used for the accumulation of lectins and working out biotechnology methods for their isolation.

Keywords: common bean, cultivar, specimens, lectins, protein, callus, biopreparation.

Одним из важных путей решения продовольственной проблемы является экологизация сельского хозяйства с применением биологических средств защиты растений от вредителей, сорняков, болезней, а также применение биопрепаратов для увеличения продуктивности сельскохозяйственных культур. Основное на-

значение биопрепаратов – сокращение и отказ от использования химически вредных веществ в промышленности, сельском хозяйстве и переход на ресурсосберегающие, экологически чистые и безопасные технологии.

Однако в настоящее время использование и применение биологического метода в нашей

республике развито недостаточно. Основными проблемами снижения урожайности и качества сельскохозяйственных культур являются: низкий потенциал почвы, высокие цены и низкий КПД минеральных удобрений, негативное влияние пестицидных препаратов на растения и почвенные биоты [1].

Республика Казахстан обладает большим рыночным потенциалом для эффективного применения биопрепаратов – нефтегазовый сектор, сельское хозяйство, животноводство и другие.

Маркетинговые исследования показывают, что в настоящее время ежегодные потребности внутреннего рынка Республики Казахстан, например, в биопрепаратах для аграрно-промышленного комплекса составляет 8300 тыс. тонн; нефтегазового сектора – более 700 тонн, охраны окружающей среды – более 500 тонн. Однако на сегодняшний день в республике нет налаженного производства биопрепаратов, а существующие потребности решаются за счет импорта из-за рубежа.

Сегодня создан и успешно применяется целый спектр микробиологических препаратов для нужд промышленности, сельского хозяйства, животноводства и охраны окружающей среды. В то же время разработок биопрепаратов растительного происхождения недостаточно. Применение фитопрепаратов в комплексе с современной агротехникой позволит наиболее полно использовать не только потенциал земли, но и биологический потенциал самих растений.

Развитие биотехнологии в Казахстане позволит восстановить плодородие почвы и увеличить урожайность сельскохозяйственных культур на 20-30%. Большие перспективы для развития биотехнологии открывает использование белковых компонентов растений, диапазон применения которых достаточно широк. В настоящее время важным направлением современной биотехнологии является разработка технологии получения биологически активных веществ, в частности лектинов, которые находят широкое применение в медицине, фармакологии, биологии и других отраслях промышленности. Среди растительных организмов особое внимание уделяется лектинам бобовых растений как объектам взаимодействия высших растений и микроорганизмов. Изучаются вопросы, связанные со структурой лектинов, их расположением в растении и органоидах растительных клеток [2].

Для разработки технологии получения лектинов фасоли необходимо не только выявить перспективные по аминокислотному составу сортаформы казахстанской и зарубежной селекции, изучить динамику накопления белков, обладающих лектиновой активностью в различных органах растения, но и дать конкретные рекомендации по методикам выделения и биотехнологическим способам получения фитопрепаратов.

Лектины содержат около 800 видов растений. Особенно много их в семенах бобовых. Синтез и выделение лектинов из растений является менее дорогостоящим и более простым по сравнению с лектинами животного происхождения, селективность связывания с углеводными детерминантами также очень высока. Количество и локализация лектинов могут изменяться в широких пределах, а их активность зависит от биотических и абиотических воздействий внешней среды [3, 4]. Установлена вариабельность уровня лектиновой активности в органах фасоли (*Phaseolus L.*) в зависимости от фазы развития, что связывают с функциональной активностью гемагглютинирующих белков [5].

К настоящему времени проведено детальное исследование физико-химических и биологических свойств многих фитолектинов [6, 7, 8], но их физиологическая роль все еще носит предположительный характер, хотя решающее значение в выполнении функций связана с наличием у них углеводсвязывающих доменов, благодаря которым лектины специфически могут взаимодействовать как со свободными моно- и олигосахаридами, так и с остатками углеводов в составе полисахаридов, гликолипидов и гликопротеидов [9, 10]. Большое число фактов свидетельствует, что лектины являются мощными биологическими стимуляторами, активирующими защитные силы организма, однако очень мало работ по выделению лектинов из растений с высокой пищевой ценностью.

В связи с актуальностью данных исследований начата работа по изучению биологической активности белковых компонентов перспективных сортобразцов фасоли в условиях Агробиостанции и в предгорной зоне Алматинской области и получению клеточных культур с высоким содержанием лектинов.

В наших исследованиях проводилось определение содержания общего белка и лектинов 12 сортов фасоли казахстанской, российской и

зарубежной селекции: Актатти, Бомба, Бийчанка, Журавушка, Иголинская, Иранская, Камелия, Ред Гойя, Пинто, Уфимская, Фатима, Юбилейная. Установлено, что на содержание и качество белка семян фасоли существенное влияние оказывают генотип. Содержание общего протеина у казахстанского сорта Актатти самое высокое и составляет 28,5%, а у российских варьирует от 24,7 до 27,7%, у зарубежных – от 21,9 до 24,8%, т.е. сорт Актатти незначительно превышает по содержанию белка российские и зарубежные – в среднем в 1,08 и 1,25 раза, соответственно. В то же время по содержанию суммарного растворимого белка казахстанский сорт образец значительно превосходит российские и зарубежные, что свидетельствует о его большей питательной ценности. Доля суммарного растворимого белка для всех изучаемых сортов образцов варьировала от 42% до 56, 7% и составляла в среднем для казахстанских, российских и зарубежных образцов 56,5%, 48,3% и 46,9%, соответственно. Оценку активности лектинов проводили путем постановки реакции геммаглютинации лектинов с кровью кроликов. Установлено, что, несмотря на то, что агглютинирующая активность у всех сортов образцов была довольно высокой, она зависела от сортовой принадлежности и варьировала от 10 до 13 баллов. Наибольшей лектиновой активностью обладали сорта Юбилейная и Журавушка.

Для разработки биотехнологических методов получения биопрепаратов часто применяется технология получения биологически активных веществ из каллусных и суспензионных культур. В связи с этим были проведены экспериментальные работы по разработке протокола массового получения каллусных культур изучаемых сортов образцов фасоли, которые могут служить ценным источником лектинов. Проведен подбор способов стерилизации семян для получения асептических проростков. В качестве стерилизующих агентов использовали хлорсодержащие вещества (хлорамин и белизна) в различных кон-

центрациях и 70% этиловый спирт. Подобранные оптимальные концентрации и время экспозиции в стерилизующем агенте для семян изучаемых сортов образцов фасоли.

Для получения каллусной биомассы проводится оптимизация питательных сред Мурасиге-Скуга и Гамборга В5 по минеральному, гормональному составу и содержанию витаминов. Проводится изучение влияния типа экспланта (эпикотиль, гипокотиль, основание листовой пластинки) на индукцию каллусогенеза и накопление биомассы в культуре тканей фасоли. Для биотехнологического анализа использован материал из 6 сортов образцов фасоли («Актатти», «Бийчанка», «Иранская», «Камелия», «Ред Гойя» и «Уфимская»). Установлено, что интенсивность каллусогенеза находится в строгой зависимости от состава питательной среды, типа экспланта и генотипа. Индукция каллусогенеза у всех изучаемых сортов образцов на экспланте гипокотиль наблюдалась на 3- 4 день, а на эпикотильях и листовой пластинке на 5-6 и 7-8 день культивирования, соответственно. Частота и интенсивность каллусогенеза на питательной среде Мурасиге-Скуга у всех изучаемых образцов была достаточно высокой по сравнению со средой Гамборга В5 и варьировала в зависимости от генотипа от 50 до 95%. Это вероятно связано с тем, что в наших экспериментах данная среда содержала высокие концентрации витаминов В1, В6 и РР и была обогащена витамином С.

Таким образом, проведенный биоскрининг сортов образцов фасоли показал, что среди казахстанских сортов образцов имеются образцы, характеризующиеся повышенным содержанием суммарного растворимого белка и лектинов. Изучение каллусообразующей способности данных сортов образцов фасоли позволило определить оптимальные условия получения клеточной биомассы, которая в дальнейшем может быть использована для изучения процессов накопления лектинов и разработки биотехнологических методов их выделения.

Литература

- 1 Биктимирова З. Качество жизни: продовольственная безопасность //Экономист. - 2004. - № 2. - 81 с.
- 2 Сытников Д.М., Коць С.Я. Участие лектинов в физиологических процессах растений //Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т.47, № 4. – С. 279-296.

3 Сытников Д.М., Коць С.Я., Маличенко С.М., Киризий Д.А. Интенсивность фосинтеза и лектиновая активность листьев сои при инокуляции ризобиями совместно с гомологичным лектином // Физиология растений. - 2006. - Т. 53, № 2. - С. 189-195.

4 Трифонова Т.В., Максютова Н.Н., Тимофеева О.А., Чернов В.М. Изменение лектиновой активности проростков озимой пшеницы при инфицировании микоплазмами // Прикл. биохимия и микробиология. - 2004. - Т. 40, № 6. - С. 675-679.

5 Вершинина З.Р. Использование лектинов бобовых для повышения урожайности культурных растений // Материалы XV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых Ломоносов-2008». - Москва, 2008. - Т. I. - Подсекция 1. - С. 12-13.

6 Канделинская О.Л., Грищенко Е.Р., Обуховская Л.В., Мاستибротская И.П., Масловский О.М. Лектины лекарственных растений дикорастущей флоры Беларуси: перспективы использования // Вестник Фонда фундаментальных исследований. - 2012. - № 2. - С. 169-182.

7 Aoki K., Suzui N., Fujimaki S., Dohmae N., et al. Destination-selective long-distance movement of phloem proteins // Plant Cell. - 2005. - V. 17. - P. 1801-1814.

8 Косенко Л.В. Сортвые различия углеводсвязывающих свойств лектинов из семян *Vicia Jabe* // Физиология растений. - 2002. - Т. 49, № 6. - С. 859-864.

9 Espinosa J.F., Asensio J.L., Garsia J.L., Laynez J., Bruix M., Wright C., Siebert H.C., Gabius H.J., Canada F.J., Jimenez-Barbero J. NMR investigation of protein-carbohydrate. Binding studies and refined three-dimensional solution structure of the complex between the B domain of wheat germ agglutinin and N,N',N''-triacyl-chitotriose // Eur. J. Biochem. - 2000. - V. 267. - P. 3965-3978.

10 Алексидзе Г.Я., Литвинов В.И., Выхребенцева А.И. Модель организации на мембране тилактоидов цикла Кальвина с участием лектина фотосистемы // Физиология растений. - 2002. - Т. 49, № 1. - С. 148-154.

References

1 Biktimirova Z. Kachestvo zhizni: prodovol'stvennaja bezopasnost' // Ekonomist. - 2004. - № 2. - 81 s.

2 Sytnikov D.M., Koc' S.Ja. Uchastie lektinov v fiziologicheskikh processah rastenij // Fiziologija i biohimija kul't. rastenij. - 2009. - Т. 47, № 4. - С. 279-296.

3 Sytnikov D.M., Koc' S.Ja., Malichenko S.M., Kirizij D.A. Intensivnost' fosinteza i lektinovaja aktivnost' list'ev soi pri inokuljacii rizobijami sovmestno s gomologichnym lektinom // Fiziologija rastenij. - 2006. - Т. 53, № 2. - С. 189-195.

4 Trifonova T.V., Maksjutova N.N., Timofeeva O.A., Chernov V.M. Izmenenie lektinovoij aktivnosti prorostkov ozimoi pshenicy pri inficirovanii mikoplazmami // Prikl. biohimija i mikrobiologija. - 2004. - Т. 40, № 6. - С. 675-679.

5 Vershinina Z.R. Ispol'zovanie lektinov bobovyh dlja povyshenija urozhajnosti kul'turnyh rastenij // Materialy XV Mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii studentov, aspirantov i molodyh uchenyh Lomonosov-2008». Moskva, 2008. - Т. I. - Podsekcija 1. S. 12-13.

6 Kandelinskaja O. L., Grishhenko E. R., Obuhovskaja L. V., Mastibrotskaja I. P., Maslovskij O. M. Lektiny lekarstvennyh rastenij dikorastushhej flory Belarusi: perspektivy ispol'zovanija // Vestnik Fonda fundamental'nyh issledovanij. - 2012. - № 2. - С. 169-182.

7 Aoki K., Suzui N., Fujimaki S., Dohmae N., et al. Destination-selective long-distance movement of phloem proteins // Plant Cell. - 2005. - V. 17. - P. 1801-1814.

8 Kosenko L.V. Sortovye razlichija uglevodsvjazyvajushhih svojstv lektinov iz semjan *Vicia Jabe* // Fiziologija rastenij. - 2002. - Т. 49, № 6. - С. 859-864.

9 Espinosa J.F., Asensio J.L., Garsia J.L., Laynez J., Bruix M., Wright C., Siebert H.C., Gabius H.J., Canada F.J., Jimenez-Barbero J. NMR investigation of protein-carbohydrate. Binding studies and refined three-dimensional solution structure of the complex between the B domain of wheat germ agglutinin and N,N',N''-triacyl-chitotriose // Eur. J. Biochem. - 2000. - V. 267. - P. 3965-3978.

10 Aleksidze G.Ja., Litvinov V.I., Vyskrebenceva A.I. Model' organizacii na membrane tilaktoidov cikla Kal'vina s uchastiem lektina fotosistemy // Fiziologija rastenij. - 2002 - Т. 49, № 1. - С. 148-154.