

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF KAZAKHSTAN

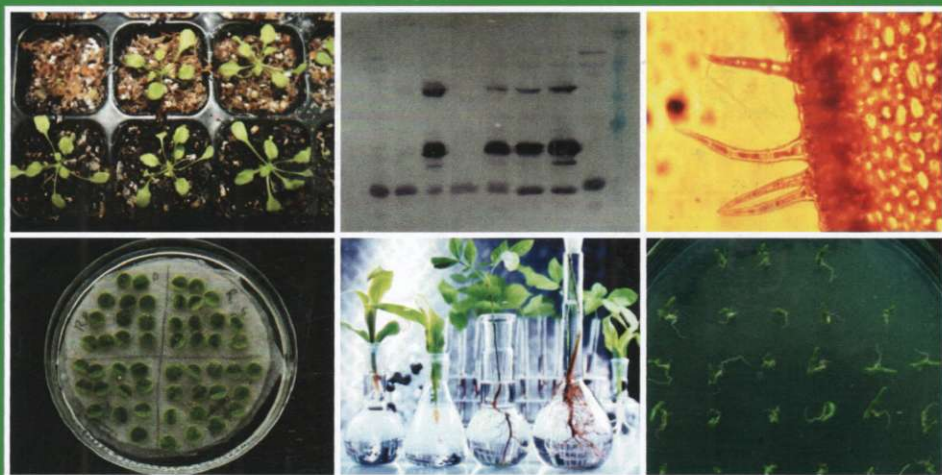
Л.Н. ГУМИЛЕВ АТЫНДАҒЫ ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
ЕВРАЗИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Л.Н. ГУМИЛЕВА
L.N. GUMILYOV EURASIAN NATIONAL UNIVERSITY



«XXI ҒАСЫР БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯСЫ»
атты халықаралық ғылыми форумының материалдары
23-24 сәуір 2014 жыл

Материалы международного научного форума
«БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ XXI ВЕКА»
23-24 апреля 2014 года

Materials of the international scientific forum
«BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY OF XXI CENTURY»
April 23-24, 2014



Астана / Astana

УДК 57:60
ББК 28.0:30.16
Ж 66

*Жалпы редакцияны басқарған и.э.д., профессор Е.Б. Сыдыков.
Под редакцией д.и.н., профессора Е.Б. Сыдыкова.*

Редакция алқасы:
Редакционная коллегия:
Р.И. Берсимбай, Р.Т. Омаров, Н.Л. Шапекова, Т.М. Ергалиев, А.М. Ергазиева.

Ж 66 «XXI ғасыр Биология және Биотехнологиясы. Биология и Биотехнология XXI века» атты халықаралық ғылыми форумының материалдар жинағы – Астана: Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, 2014. – 105 б., қазақша, орысша, ағылшынша

ISBN 978-9965-31-635-7

Жинақ «XXI 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, магистранттарға, Phd докторанттарға, сәйкес мамандықтағы студенттерге арналған.

Сборник составлен по материалам, представленным участниками Международного научного форума «Биология и Биотехнология XXI века». Издание освещает актуальные вопросы биологии, биотехнологии, молекулярной биологии и генетики. Сборник рассчитан на научных работников, магистрантов, Phd докторантов, студентов соответствующих специальностей.

**УДК 57:60
ББК 28.0:30.16**

ISBN 978-9965-31-635-7

Жолдасова И.М., Мусаев А.К., Темирбеков Р.О., Муканбеткалиева М.М., Есенгалиева И.С. Большое Аральское море – трансграничный «Артемиевый» водоем.....	60
Койбагарова А.С., Тулегенова Г. М, Казкеев Е.Т., Абаш А.С., Иманжанов М. Дикорастущие эфирномасличные растения Восточно- Казахстанской области.....	63
Курчаева Е.Е., Максимов И.В., Ухина Е.Ю., Сысоева М.Г., Лютиковаа.О. Трансглутаминаза Revadatg в технологии мясных хлебов.....	68
Овсянниковв.Ю., Ященко С.М., Бостынец Н.И. Анализ способов концентрирования экстракта поджелудочной железы крупного рогатого скота.....	70
Сысоева М.Г., Ухина Е.Ю., Курчаева Е.Е. Оптимальные параметры ферментативного гидролиза ксилана.....	71
Тағабаева А. О. Көкшетау ұлттық табиғи паркіндегі жеуге жарамды Агарика санырауқұлақтарыныңтүрлік құрамын таралу ерекшеліктерін анықтау.....	72
Тезекова О.Т. Қазақстанның далалық аймағында жаздық жұмсақ өсіру проблемасы.....	75
Ухина Е. Ю, Мараева О.Б., Сысоева М.Г., Курчаева Е.Е. Новые аспекты в разработке функциональных хлебобулочных изделий.....	77
Ухина Е.Ю., Мараева О.Б. Цитолитические ферментные препараты в соковом производстве.....	80
Ященко С.М., Пойманов В.В. Перспективы криогенного замораживания биологических объектов.....	82

Секция 5«Современные Аспекты Молекулярной Биологии»

А.М. Қыдыбекова, Д. Казыкен, Р.І. Берсімбаі. Тогсигнал жүйесі және arabidopsis дамуы.....	83
Ергалиев Т.М., Омаров Р.Т. Механизм РНК-интерференции в растениях и вирусные белки-супрессоры.....	87
ЖылкибаеваА.А. Регуляция импорта рибосомальных белков из цитоплазмы в ядро клеток эукариот.....	90
Нуралин К. Бағана жасушаларжәне жасушалық технологиялар:бүгіні мен ертеңі.....	94
Айтбенбетова М.С. Өсімдік вирустарын зерттеудің қазіргі заманғы әдістері.....	96
Айтбенбетова М.С. Өсімдіктердің вирустарға қарсы тұру механизмдері.....	99

24. Chan T., Carvalho J., Riles L., Zheng X. A chemical genomics approach toward understanding the global functions of the target of rapamycin protein (TOR). //Proc Natl Acad Sci U S A.- 2000.- Vol. 97.- P. 13227-13232.
25. Watanabe Y., Shinozaki-Yabana S., Chikashige Y., Hiraoka Y., Yamamoto M. Phosphorylation of RNA-binding protein controls cell cycle switch from mitotic to meiotic in fission yeast. //Nature.- 1997.- Vol.386.- P. 187-190
26. Kawai M., Nakashima A., Ueno M., Ushimaru T., Aiba K., Doi H., Uritani M. Fission yeast tor1 functions in response to various stresses including nitrogen starvation, high osmolarity, and high temperature. //Curr Genet.- 2001.- Vol. 39.- P.166-174.
27. Weisman R., Choder M. The fission yeast TOR homolog, tor1+, is required for the response to starvation and other stresses *via* a conserved serine. //J BiolChem.- Vol. 276.- P.7027-7032.

УДК 577.218

МЕХАНИЗМ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ В РАСТЕНИЯХ И ВИРУСНЫЕ БЕЛКИ-СУПРЕССОРЫ.

Обзорная статья

Ергалиев Т.М., Омаров Р.Т.

*Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Казахстан, 10008 Астана,
ул. Мунайтынасова, 5; электронная почта: timyerg@gmail.com*

В жизни растений РНК – интерференция (RNAi) является не только одним из основных внутренних факторов экспрессии генов, но также играет важную роль при иммунном ответе на вирусную инфекцию. Механизм RNAi представляет собой сложный биохимический процесс, приводящий к опознаванию и деградации нежелательных матричных РНК в организме при помощи малых РНК [1].

Для активации механизма RNAi в организме необходимо присутствие в клетке двухцепочечных молекул РНК (dsRNA) [2]. Источниками dsRNA могут являться либо некодирующие предшественники микроРНК (pre-miRNA), либо вирусные РНК. Pre-miRNA синтезируются на основе генов некодирующих РНК и имеют эндогенную природу, и, соответственно, регулируют экспрессию генов, тогда как вирусные dsRNA являются экзогенными, чужими для организма хозяина [3]. Pre-miRNA за счет инвертированных повторов способны образовывать трехмерные структуры типа «стебелек-петля» длиной до 70 нуклеотидов, с достаточно продолжительным участком двухцепочечной РНК [4].

При обнаружении в клетке dsRNA происходит их разрезание особым белком Dicer, выполняющим функции рибонуклеазы. Распознавание и связывание dsRNA ферментом Dicer осуществляется рецептором MDA5, играющим важную роль в иммунном ответе на вирусную инфекцию в силу своей специфичности к двухцепочечным молекулам РНК. [5]. При разрезании ферментом Dicer pre-miRNA образуется микроРНК (miRNA), тогда как в случае с вирусной dsRNA в результате нуклеазной активности белка образуются короткие интерферирующие РНК (siRNA). Молекулы siRNA представляют собой небольшие двухцепочечные молекулы РНК длиной от 19 до 25 пар нуклеотидов (оптимальная длина 21 нт) с двумя свободными нуклеотидами на 3' концах [2]. МикроРНК являются разновидностью некодирующей РНК длиной 21-22 нт. Еще одной отличительной особенностью между siRNA и miRNA является полная комплементарность малых интерферирующих РНК к определенному участку мРНК-мишени, тогда как микроРНК может быть лишь частично комплементарна целевой мРНК [6].

Образовавшиеся в процессе деятельности ферментативного белка Dicer малые интерферирующие РНК и микроРНК в дальнейшем связываются с комплексом эндонуклеазных белков RISC (RNA induced silencing complex). Ассоциированные с белковым комплексом двойные молекулы РНК при помощи АТФ разделяются на одинарные цепочки РНК входящими в состав RISC белками. При этом связанной с RISC остается только

«ведущая» нить, тогда как «ведомая» подвергается деградации [7]. Тем более представляется интересным тот факт, что «навигатор» данного комплекса белок R2D2 связывается со стабильным 5' концом «ведомой» цепочки РНК [8].

RISC является одним из основных компонентов механизма РНК-интерференции и способен выполнять каталитическую функцию, обеспечиваемую входящими в состав комплекса белками семейства Argonaute (Ago) [9]. Белки Ago располагаются в специализированных участках цитоплазмы, называемых Р-тельцами. Повреждение или инактивация данных областей приводит к существенному снижению эффективности RNAi [10].

При помощи связанной цепочки РНК RISC осуществляет поиск комплементарных участков на различных мРНК и при обнаружении таких последовательностей осуществляет деградацию спаренной матричной РНК каталитически активными белками семейства Argonaute. Зараженные растения при этом практически полностью восстанавливаются.

Вирусные супрессоры РНК интерференции.

В ходе эволюционного процесса некоторые вирусы приспособились к РНК-интерференции и «научились» подавлять ее посредством специализированных белков-супрессоров. В настоящее время известно большое количество вирусных белков, способных к подавлению RNAi. Механизмы подавления RNAi вирусными супрессорами довольно разнообразны и часто используют независимые пути супрессии иммунного ответа растений.

В данном обзоре представлены основные вирусные белки-супрессоры РНК-интерференции.

Tombusvirus - P19. Супрессорная активность P19 белка основывается на его способности к образованию димеров, связывающих siRNA и тем самым предотвращающих программирование RISC [11, 12]. Эффективность действия P19 белка во многом определяется его количественным присутствием, или интенсивностью его экспрессии в зараженном организме, что свидетельствует об конкурентном связывании между супрессором и RISC с малыми интерферирующими РНК [13].

Интересным представляется тот факт, что P19 белок способен также подавлять RNAi посредством усиления экспрессии miR168, который регулирует количественные показатели Ago1 [14].

Potyvirus - HC-Pro. Это многофункциональный вирусный белок, способный в том числе и к супрессии RNAi, что происходит за счет ингибирования DCL [15]. Также было установлено, что HC-Pro способен образовывать димеры и мультимеры, что критично для его супрессорной функции [16]. Группой исследователей было отмечено негативное влияние экспрессии данного белка на рост и развитие растений *Arabidopsis*, что предположительно вызвано связыванием HC-Pro как с siRNA, так и с miRNA [17, 18].

Cucumovirus - 2b. Данный супрессор хорошо характеризует «изобретательность» вирусов в борьбе с защитными механизмами растений. Экспрессия 2b приводит к блокированию распространения межклеточного сигнала RNAi и ингибированию метилирования ДНК [19]. Также супрессор неизвестным пока способом посредством салициловой кислоты блокирует механизм защиты растений [20]. Более того, подавление РНК-интерференции также может осуществляться непосредственным связыванием siRNA супрессором [21]. И наконец, недавно было установлено, что 2b способен к ингибированию нуклеазной активности белка AGO1, непосредственно ассоциированного с RISC [22].

Polyovirus- P0. Белок взаимодействует с гомологом S-фазной киназы 1 (S-phasekinase-related protein 1 (SKP1)), который является компонентом SCF семейства убиквитинЕ3 лигазы [23]. Синтез P0 вызывает деградацию AGO1 белка [24].

Tobamovirus- репликаза. TMV репликаза проявляет супрессорную активность путем связывания молекул siRNA [25]. Сродный к TMV репликазе, белок 122 кДа вируса cr-TMV, проявляет аналогичные свойства, подавляя РНК-интерференцию [26].

Beet yellows virus - P21. Белок-супрессор взаимодействует со спаренными miRNAs и siRNAs in vivo [27]. Подобно P19, P21 не воздействует на активность RISC комплекса, но препятствует процессу miRNA метилирования [28]. Однако если Tombusvirus P19 связывается с молекулами siRNA size-специфично, то BYV P21 также может ассоциироваться с более длинными ss- и dsRNAs in vitro [29].

Белокоболочки Turnip crinklevirus (TCV). Как и BYV-P21, TCV CP связывает молекулы РНК вне зависимости от их размера, поэтому действие супрессора распространяется и на dsRNAs [30], ингибируя тем самым воздействие DCL и препятствуя образованию siRNA.

Tobravirus 16K. Данный белок необходим для эффективной аккумуляции вируса в зараженном растении. Известно также, что белок 16K может частично супрессировать RNAi в клетках плодовых мушек *Drosophila* [31]. Предположительно, TRV-16K блокирует РНК-интерференцию до момента образования dsRNA, так как супрессионная активность белка нивелировалась с увеличением дозы dsRNA [32].

Hordeivirus- yb. Это 17кДа цистеин-обогащенный белок. Было показано, что BSMV yb взаимодействует с ssRNAs посредством трех Zn-связывающих участков, находящихся на N-терминальной части белка [33]. Было показано, что РНК связывающая способность yb белка существенно стимулируется в присутствии Zn ионов [34].

Для подавления РНК-интерференции вирусные белки-супрессоры избрали стратегию выключения ее ключевых элементов. Были рассмотрены белки, инактивирующие действие таких ферментов, как DCL, Ago1, или связывающие dsRNA, siRNA. Более того, некоторые из белков-супрессоров оказались способными регулировать количественное содержание РНК-нуклеазы Ago1 посредством усиления экспрессии miR168. Такое разнообразие методов подавления RNAi лишний раз убеждает нас в том, что многое еще осталось неизвестным, и без сомнения, в скором будущем будет совершенно еще не мало интересных открытий в данном направлении.

Список используемой литературы:

1. Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E., and Mello, C.C. (1998) *Nature*, 391, 806-811.
2. Bernstein E, Caudy A, Hammond S, Hannon G (2001). «Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference»
3. Zamore P, Tuschl T, Sharp P, Bartel D (2000). «RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals». *Cell* 101 (1): 25-33
4. Wang QL, Li ZH (2007). «The functions of microRNAs in plants». *Front. Biosci.* 12: 3975-82
5. Bin Wu, Alys Peisley. Structural Basis for dsRNA Recognition, Filament Formation, and Antiviral Signal Activation by MDA5, *Cell* 152, 276-289, January 17, 2013
6. Pillai RS, Bhattacharyya SN, Filipowicz W. «Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms?». *Trends Cell Biol.*
7. Matranga C, Tomari Y, Shin C, Bartel D, Zamore P (2005). «Passenger-strand cleavage facilitates assembly of siRNA into Ago2-containing RNAi enzyme complexes». *Cell* 123 (4): 607-20.
8. Tomari Y, Matranga C, Haley B, Martinez N, Zamore P (2004). «A protein sensor for siRNA asymmetry». *Science* 306 (5700): 1377-80.
9. Sen G, Blau H (2005). «Argonaute 2/RISC resides in sites of mammalian mRNA decay known as cytoplasmic bodies». *Nat Cell Biol* 7 (6): 633-6.
10. Lian S, Jakymiw A, Eystathiou T, Hamel J, Fritzler M, Chan E (2006). «GW bodies, microRNAs and the cell cycle». *Cell Cycle* 5 (3): 242-5.
11. Ye, K., Malinina, L., and Patel, D.J. (2003) *Nature*, 426, 874-878.
12. Vargason, J.M., Szittyá, G., Burgyan, J., and Tanaka Hall, T.M. (2003) *Cell*, 115, 799-811.
13. Qiu, W, Park, J.W, and Scholthof, H.B. (2002) *Mol. Plant Microbe Interact.*, 15, 269-280.
14. Varallyay, E. et al. (2010) Plant virus-mediated induction of miR168 is associated with repression of ARGONAUTE1 accumulation. *EMBO J.* 29, 3507-3519
15. Mallory, A.C., Reinhart, B.J., Bartel, D., Vance, V.B., and Bowman, L.H. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 15228-15233
16. Plisson, C., Drucker, M., Blanc, S., German-Retana, S., Le Gall, O., Thomas, D. et al. (2003) *J. Biol. Chem.*, 278, 23753-23761

17. Kasschau, K.D., Xie, Z., Allen, E., Llave, C., Chapman, E.J., Krizan, K.A. et al. (2003) *Dev. Cell*, 4, 205-217.
18. Lakatos, L., Csorba, T., Pantaleo, V., Chapman, E.J., Carrington, J.C., Liu, Y.P. et al. (2006) *EMBO J.*, 25, 2768-2780.
19. Guo, H.S., and Ding, S.W (2002) *EMBO J.*, 21, 398-407.
20. Ji, L.H., and Ding, S.W (2001) *Mol. Plant Microbe Interact.*, 14, 715-724
21. Goto, K., Kobori, T., Kosaka, Y., Natsuaki, T, and Masuta, C. (2007) *Plant Cell Physiol.*, 48, 1050-1060.
22. Zhang, X., Yuan, Y.R., Pei, Y., Lin, S.S., Tuschl, I, Patel, D. J. et al. (2006) *Genes Dev.*, 20, 3255-3268.
23. Pazhouhandeh, M., Dieterle, M., Marrocco, K., Lechner, E., Berry, B., Brault, V. et al. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 1994-1999.
24. Bortolamiol, D., Pazhouhandeh, M., Marrocco, K., Genschik, P., and Ziegler-Graff, V. (2007) *Curr. Biol.*, 17, 1615-1621.
25. Kurihara, Y., Inaba, N., Kutsuna, N., Takeda, A., Tagami, Y., and Watanabe, Y (2007) *J. Gen. Virol.*, 88, 2347-2352.
26. Csorba, T., Bovi, A., Dalmay, T., and Burgyan, J. (2007) *J. Virol.*, 81, 11768-11780.
27. Chapman, E.J., Prokhnevsky, A.I., Gopinath, K., Dolja, V.V., and Carrington, J.C. (2004) *Genes Dev.*, 18, 1179-1186.
28. Yu, B., Chapman, E.J., Yang, Z., Carrington, J.C., and Chen, X. (2006) *FEBS Lett.*, 580, 3117-3120.
29. Keqiong Ye, Dinshaw J. Pate, RNA Silencing Suppressor p21 of Beet Yellows Virus Forms an RNA Binding Octameric Ring Structure, *Structure*, Vol. 13, 1375-1384, September, 2005
30. Merai, Z., Kerenyi, Z., Kertesz, S., Magna, M., Lakatos, L., and Silhavy, D. (2006) *J. Virol.*, 80, 5747-5756.
31. Reavy, B., Dawson, S., Canto, T, and MacFarlane, S.A. (2004) *BMC Biotechnol.*, 4, 18.
32. Martinez-Priego, L., Donaire, L., Barajas, D., and Llave, C. (2008) *Virology*, 376, 346-356.
33. Donald, R.G., and Jackson, A.O. (1996) *J. Gen. Virol.*, 77, 879-888
34. Rakitina, D.V., Yelina, N.E., and Kalinina, N.O. (2006) *FEBS Lett.*, 580, 5077-5083

УДК 576.54

РЕГУЛЯЦИЯ ИМПОРТА РИБОСОМАЛЬНЫХ БЕЛКОВ ИЗ ЦИТОПЛАЗМЫ В ЯДРО КЛЕТОК ЭУКАРИОТ.

А.А. Жылкибаев

Евразийский национальный университет им Л.Н.Гумилева, кафедра Общей биологии и геномики. г.Астана, Казахстан
e-mail: askokshe@mail.ru

Регулирование клеточного цикла за счет синхронизации клеточного роста позволяет получить более достоверные данные при изучении нуклео-цитоплазматического транспорта. В данной работе были использованы опухолевые линии клеток человека, которые были проанализированы в течении 8, 24 и 96 часов методом проточной цитометрии. Схематический контур процедуры синхронизации клеточного цикла показал, что более синхронизированные клетки оказались при 96 часах культивирования. Полученные клетки с помощью синхронизации были использованы для изучения импорта веществ в ядро клеток.

Ключевые слова

Рибосомальные белки, ядро, клеточный цикл

Введение

Ядро является определяющей органеллой эукариотической клетки. Оно позволяет разделить генетический материал и транскрипционный аппарат (ядро) от трансляционного и метаболического аппарата клетки (цитоплазма). Это разделение облегчает регулирование разнообразия клеточных процессов, включая экспрессию генов, передачу сигнала и клеточный цикл. Один из ключевых аспектов такой селективной регуляции - это транспорт веществ между цитоплазмой и ядром. Перенос осуществляется через большие мембранные структуры, называемые ядерными поровыми комплексами (*NPC-nuclearporecomplex*).