

УДК 581.1

## ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА 7S И 11S ГЛОБУЛИНОВ СОРТОВ СОИ РАЗЛИЧНОГО ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В.Г. АДАМОВСКАЯ, О.О. МОЛОДЧЕНКОВА, Т.В. КАРТУЗОВА, В.И. СИЧКАРЬ, Г.Д. ЛАВРОВА, Л.Я. БЕЗКРОВНАЯ

Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения  
Украина, 65036, Одесса, Овидиопольская дорога, 3  
e-mail: olgamolod@ukr.net

**Цель.** Целью работы явилось изучение особенностей компонентного состава 7S и 11S глобулинов сои различного филогенетического происхождения. **Методы.** При выполнении исследований были использованы методы выделения и идентификации 7S и 11S глобулинов сои, разработанные в лаборатории биохимии растений. **Результаты.** Анализ полученных результатов показал, что сорта сои разного генетического происхождения характеризуются полиморфизмом по содержанию в компонентном составе 7S и 11S глобулинов таких субъединиц, как  $\alpha$ ,  $\alpha^1$ ,  $\beta$ ,  $A_3$ ,  $A_5$ ,  $A$  и  $B$ . **Выводы.** Выявленный с помощью разработанных биохимических методов полиморфизм по содержанию определенных субъединиц в компонентном составе 7S и 11S глобулинов, влияющих на здоровье человека, указывает на возможность их использования для тестирования генотипов сои продовольственного направления.

**Ключевые слова:** соя (*Glycine max* L., *Glycine soya*), полиморфизм, 7S и 11S глобулины, субъединицы.

**Введение.** На сегодняшний день соя является одним из основных компонентов системы «здоровое питание», которая с каждым годом завоевывает все большее количество последователей. Соевые бобы – уникальный источник высококачественного белка, среднее содержание которого колеблется в интервале 35–40 %. Биологическая ценность соевого белка в 2 раза выше, чем у других бобовых культур и по своему качеству приближается к белкам животного происхождения. Соевые белки отличаются оптимальной сбалансированностью по аминокислотному составу. Недостающими аминокислотами в соевом белке являются серосодержащие (метионин и цистеин). На мировом рынке широко представлены соевые продукты: масло, мука, изолированный белок, тестурированный белок, соевый соус, соевое молоко, лецитин.

Известно, что население Юго-Восточной Азии и Америки, употребляющее соевые продукты в значительных количествах, имеет более низкую заболеваемость сердечно-сосудистой системы, чем население стран Европы, в структуре питания которых они занимают незначительный удельный вес. Наибольшее количество научных исследований посвящено роли сои в профилактике и лечении таких заболеваний как злокачественные опухоли, заболевания нервной системы, лактозная недостаточность, аллергия, остеопороз, сахарный диабет.

Считается, что наиболее перспективными белками для производства продуктов питания, являются глобулины, которые имеют константу седиментации 7S ( $\beta$ -конглицинин) и 11S (глицинин) [1]. Их содержание и соотношение в суммарном белке определяют его питательную ценность, так как они неодинаково сбалансированы по аминокислотному составу. 7S и 11S глобулины имеют четвертичную структуру, различаются по молекулярной массе (7S – 180-210 кДа, 11 S – 350 кДа) и содержанию в белке (7S – 37 %, 11S – 31 %). 7S и 11S глобулины состоят из отдельных субъединиц, каждая из которых включает кислую и основную

© В.Г. АДАМОВСКАЯ, О.О. МОЛОДЧЕНКОВА, Т.В. КАРТУЗОВА, В.И. СИЧКАРЬ, Г.Д. ЛАВРОВА, Л.Я. БЕЗКРОВНАЯ, 2015

белковую молекулы, связанные между собой дисульфидными связями. Молекулярная масса кислых субъединиц находится в пределах 37–42 кДа, основных – 20 кДа. Разные комбинации изомеров субъединиц лежат в основе полиморфизма данных белков. Установлено, что не из каждого сорта сои можно получить продукты питания с заданными технологическими характеристиками [2]. Изучение глобулинов сои важно для отбора сортов сои лечебно-профилактического направления. Так установлено, что наличие-отсутствие в компонентном составе 7S и 11S глобулинов сои определенных субъединиц оказывает как положительное, так и отрицательное влияние на здоровье человека [3]. Показано влияние изолята 7S глобулинов, обогащенного содержанием  $\alpha'$ -субъединицы, на уровень холестерина и триглицеридов в плазме крови [4]. В то же время отмечено, что три основных белка 11S глобулиновой фракции (28 кДа,  $\alpha$ ,  $\beta$ -субъединицы) вызывают аллергическую реакцию у человека [5].

Соя – одна из наиболее изученных в генетическом отношении сельскохозяйственных культур, у которой в настоящее время известно 469 гена [6].  $\beta$ -Конглицинин является трехмерным белком и состоит из трех субъединиц  $\alpha'$ ,  $\alpha$  и  $\beta$ . Описано три гена, кодирующих 7S глобулины [3, 6]. 11S глобулины состоят из 5 субъединиц. Показано, что каждая из субъединиц глицинина состоит из двух протомеров. Субъединицы глицинина разделены на две группы: группа I (G1, G2, G3 или  $A_{1a}B_2$ ,  $A_2B_{1a}$ ,  $A_{1b}B_{1b}$ ) кодируется генами *Gy1*, *Gy2*, *Gy3*; группа IIa (G4 или  $A_5A_4B_3$ ) кодируется геном *Gy4*; группа IIb (G5 или  $A_3B_4$ ) кодируется геном *Gy5*. Идентифицированы и картированы два дополнительных глицининовых гена, а именно псевдоген *gub* и функциональный ген *Gy7*, кодирующий шестую субъединицу глицинина G7 [7].

Китайские исследователи, проанализировав компонентный состав у 1624 линий и мутантных форм, дефицитных по отдельным компонентам субъединиц этих белков, выявили наличие корреляционных связей между наличием-отсутствием определенных компонентов и функциональными свойствами этих белков [8]. Бразильскими исследователями установлены генетические различия по содержанию и компонентному составу субъединиц 7S и 11S глобулиновых фракций соевого белка, что по их мнению указывает на возможность ведения отбора не только на содержа-

ние конкретных белковых фракций, но и их субъединиц [9].

Целью наших исследований явилось изучение особенностей компонентного состава 7S и 11S глобулинов сои различного филогенетического происхождения для выяснения возможности тестирования генотипов сои с использованием биохимических маркеров.

### Материалы и методы

Исследования проводились на гибридных линиях растений  $F_5$  сои (семена  $F_6$ ) (*Glycine max. L.*): g [ $mS_1T$  x Токуо x K4937) x Kiszelniska (3 линии), Хейнун x ( $K_{12}$  x Чернобурая) – (2 линии) и их родительских формах: g [ $mS_1T$  x Токуо x K4937) x Kiszelniska, Хейнун,  $K_{12}$  x Чернобурая, предоставленных отделом селекции, генетики и семеноводства бобовых культур СГИ-НЦСС; генотипах сои с определенным состоянием генов глицинина и  $\beta$ -конглицинина: Williams 82 (дикий тип,  $\alpha'$ -субъединицы  $\beta$ -конглицинина и  $G_4$ -субъединицы глицинина), Lai wa dou (положительный контроль  $G_4$ -субъединицы глицинина), Harovinton (полный комплект субъединиц глицинина и  $\beta$ -конглицинина), Enrei (A4 ноль-аллель  $\rightarrow$  отсутствие  $G_4$ -субъединицы), Keburi (мутантный тип  $\alpha'$ -субъединицы  $\beta$ -конглицинина), Raiden (аллель *Ggy1*  $\rightarrow$  присутствие  $\alpha'$ -субъединицы  $\beta$ -конглицинина; рецессивный аллель *gy4*  $\rightarrow$  отсутствие  $G_4$ -субъединицы (A5A4B3), P1 468904, P1468906 (аллель *Gy4-a*, субъединица глицинина A5A4B3 (дикий тип)), P1 468906, P1 468918 (*Glycine soja*) (аллель *Gy4-b*, субъединица глицинина A5A4B3(вариант)), семена которых получены из National Plant Germplasm System (США).

Содержание белка в семенах сои определяли по методу Кьельдаля на анализаторе Kjeltec Auto 1030. Выделение и идентификацию 7S и 11S глобулинов сои проводили методами, разработанными и усовершенствованными в нашей лаборатории [10]. Электрофорез белков проводили в 15 % ПААГ, содержащем 1 % SDS, с использованием системы Нем-Нэфф. В качестве маркеров молекулярных масс использовали следующую белковую смесь: 109 кДа – коллагеназа, 97 кДа – фосфоорилаза B, 67 кДа – бычий сывороточный альбумин, 45 кДа – альбумин яичный, 30 кДа – карбоангидраза, 20,1 кДа – ингибитор трипсина, 14,4 кДа –  $\alpha$ -лактальбумин.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета программ «Анализ

данных электронных таблиц «Microsoft Excel», программы анализа изображений «ImageJ», «AnalS».

### Результаты и обсуждение

При ведении селекции сои продовольственного направления необходимо учитывать компонентный состав белковых фракций с тем, чтобы установив наличие-отсутствие определенных компонентов в составе 7S и 11S глобулинов, судить о возможности использования исследуемых генотипов для создания сортов продовольственного направления. С этой целью была проведена оценка генотипов сои разного генетического происхождения с известным состоянием генов глицинина и  $\beta$ -конглицинина с использованием электрофоретического анализа компонентного состава 7S и 11S глобулинов.

Как видно из результатов, представленных в таблице и на рисунках 1, 2, коллекционные образцы характеризуются разным содержанием белковых компонентов в различных по молекулярной массе зонах электрофоретического спектра. При этом следует отметить, что у сорта Williams 82 прослеживается высокое содержание  $\alpha'$  и  $\beta$  субъединиц и А, В компонентов. В то же время данные электрофореза позволили установить отсутствие  $\alpha'$ -субъединицы у сорта Keburi. Кроме того, следует отметить, что у этого сорта в компонентном составе электрофоретического спектра 7S глобулинов снижено содержание  $\beta$  и А5 субъединиц (рис. 1).

На основании результатов, представленных на электрофореграммах, Сорт Enrei, по сравнению

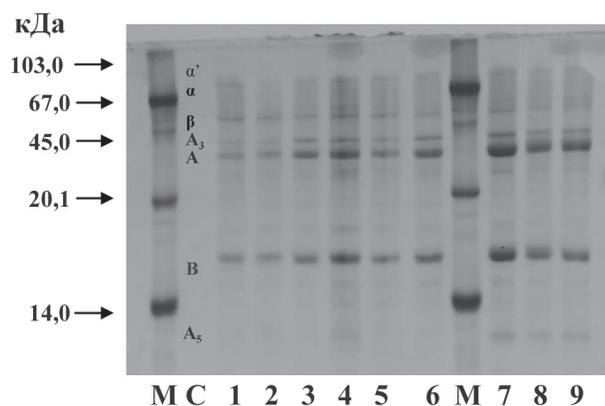


Рис. 1. Электрофорез в 15 % ПААГ, pH 8,3 7S глобулинов семян генотипов сои с известным состоянием генов глицинина и  $\beta$ -конглицинина: М – маркеры молекулярной массы; С – субъединицы глицинина (А – кислая; В – щелочная); 1 – Williams 82, 2 – Keburi, 3 – Enrei, 4 – Harovinton, 5 – Raiden, 6 – Lai wa dou, 7 – PI 468904, 8 – PI 468918, 9 – PI 488916

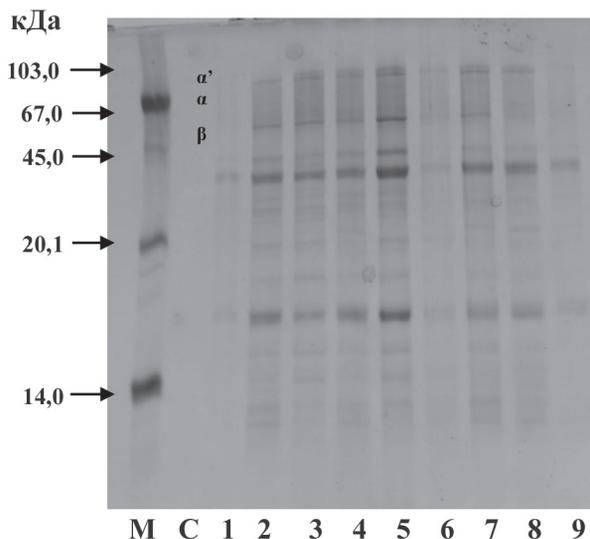


Рис. 2. Электрофорез в 15 % ПААГ, pH 8,3 11S глобулинов семян генотипов сои с известным состоянием генов глицинина и  $\beta$ -конглицинина: М – маркеры молекулярной массы; С – субъединицы  $\beta$ -конглицинина; 1 – Williams 82, 2 – Keburi, 3 – Enrei, 4 – Harovinton, 5 – Raiden, 6 – Lai wa dou, 7 – PI 468904, 8 – PI 468918, 9 – PI 488916

с сортами Williams 82 и Keburi, характеризуется значительно более высокой интенсивностью  $\alpha$ ,  $\beta$  субъединиц и В компонента. Самое низкое содержание А3,  $\beta$  субъединиц и А, В белковых компонентов в электрофоретическом спектре 7S глобулинов зафиксировано нами у сорта Raiden, а у сорта Harovinton – подтверждено наличие полного набора субъединиц, характерных для глицинина и  $\beta$ -конглицинина. Более высокой интенсивностью  $\beta$  и А3 субъединиц 7S глобулинов, по сравнению с сортом Harovinton, выделяется сорт Lai wa dou. По количеству белковых компонентов 7S глобулинов выделяется форма PI 468904, у которой в зоне среднемолекулярных белков отсутствуют 4 компонента, которые отмечаются у сорта Harovinton (рис. 1).

Как видно из таблицы, из сортов, взятых в изучение, по содержанию белковых компонентов на электрофореграммах 11S глобулиновой фракции выделяются только два сорта – Williams 82 (США) и Keburi (Япония), у которых в высокобелковой и низкобелковой зонах отсутствует по одному компоненту. По всей видимости, эти сорта характеризуются низким содержанием липоксигеназы (103 кДа) и ингибитора трипсина (20,1 кДа).

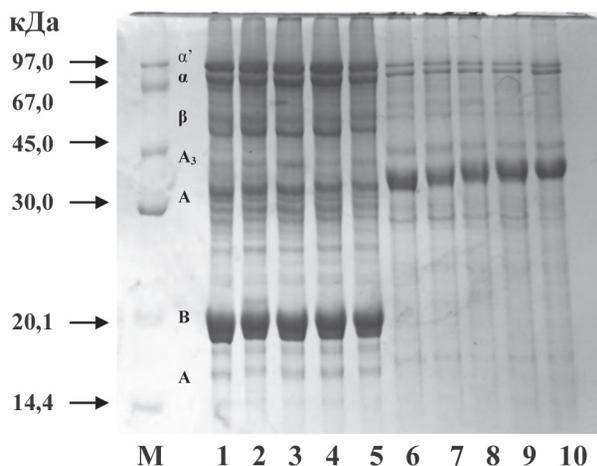
Следующим этапом наших исследований было изучение компонентного состава 7S и 11S глобу-

**Таблица.** Компонентный состав 7S и 11S глобулинов семян генотипов сои разного генетического происхождения с известным состоянием генов глицинина и β-конглицинина

Сорт, форма	Происхождение	Количество белковых компонентов в электрофоретическом спектре							
		7S глобулины				11S глобулины			
		высокомолекулярные	среднемолекулярные	низкомолекулярные	сумма	высокомолекулярные	среднемолекулярные	низкомолекулярные	сумма
Williams 82	США	9	11	5	25	6	8	4	18
Keburi	Япония	8	12	4	24	6	8	4	18
Enrei	Япония	9	12	5	26	7	9	3	19
Harovinton	Канада	9	12	5	26	7	9	3	19
Raiden	Япония	9	12	5	26	7	9	3	19
Lai wa dou	Китай	9	12	5	26	7	9	3	19
PI 468904		9	8	5	22	7	9	3	19
PI 468916		9	12	5	26	7	9	3	19
PI 468918		9	12	5	26	7	9	3	19

линовых фракций у двух гибридных линий F<sub>6</sub> и их родительских форм. Как видно из рис. 3, у сорта Kiszelniska ♂, гибридной формы [mS<sub>1</sub>T x Токуо x K4937] ♀ и линий F<sub>6</sub> [mS<sub>1</sub>T x Токуо x к 4937] x Kiszelniska, созданных на их основе, в электрофоретическом спектре 7S глобулинов наблюдается слабая интенсивность β, A5 и A3 субъединиц по сравнению с интенсивностью данных субъединиц, наблюдаемых нами в коллекционных образцах, представленных на рис. 1.

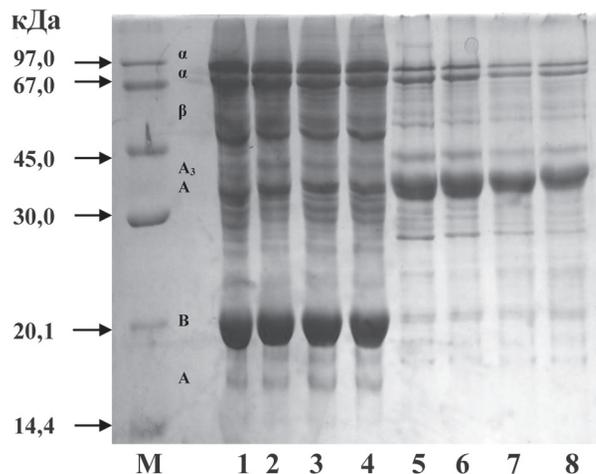
Аналогичная тенденция по интенсивности β, A5 и A3 субъединиц отмечается на электрофореграммах 7S глобулинов у гибридных линий F<sub>6</sub>, созданных на основе родительских форм Хей-нун



**Рис. 3.** Электрофорез в 15 % ПААГ, pH 8,3 11S (1–5) и 7S (6–10) глобулинов семян гибридных линий F<sub>6</sub> сои ([mS<sub>1</sub>T x Токуо x к 4937] x Kiszelniska) и их родительских форм: М – маркеры молекулярной массы; 1,6 – ([mS<sub>1</sub>T x Токуо x к 4937] ♀; 2,7 – Kiszelniska ♂; 3–5, 8–10 – ([mS<sub>1</sub>T x Токуо x к 4937] x Kiszelniska F<sub>6</sub>

и K<sub>12</sub> x Чернобурая (рис. 4). При этом следует отметить очень слабую интенсивность В-компонента на электрофореграмме 7S глобулиновой фракции у гибридной линии F<sub>6</sub> [mS<sub>1</sub>T x Токуо x к 4937] x Kiszelniska и ее родительских форм (Kiszelniska ♂ и гибридной формы [mS<sub>1</sub>T x Токуо x K4937] ♀). Кроме того, как видно из результатов, представленных на рис. 3 и рис. 4, отмечаются межсортовые различия по компонентному составу 7S и 11S глобулиновых фракций, отмеченные нами ранее на сортах отечественной и зарубежной селекции [11].

Таким образом, анализируя полученные данные можно констатировать следующее: сорта сои разного генетического происхождения характери-



**Рис. 4.** Электрофорез в 15 % ПААГ, pH 8,3 11S (1–4) и 7S (5–8) глобулинов семян гибридных линий F<sub>6</sub> сои Хей-нун x K<sub>12</sub> x Чернобурая и их родительских форм: М – маркеры молекулярной массы; 1,5 – Хей-нун ♀; 2,7 – K<sub>12</sub> x Чернобурая ♂; 3-5, 8–10 – Хей-нун x K<sub>12</sub> x Чернобурая F<sub>6</sub>

зуються неординарним содержанием в компонентном составе 7S и 11S глобулинов сои таких субъединиц как  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ , A3, A5 и A, B, которые оказывают определенное влияние на здоровье человека.

### Выводы

Проведена оценка компонентного состава 7S и 11S глобулинов сортов сои различного генетического происхождения с известным состоянием генов глицинина и  $\beta$ -конглицинина с использованием электрофоретического анализа. Выявленный полиморфизм по содержанию определенных субъединиц, оказывающих влияние на здоровье человека, в компонентном составе 7S и 11S глобулинов, указывает на возможность его использования для тестирования генотипов сои продовольственного направления.

### Список литературы

1. Клименко В.Г. Белки семян бобовых растений. – Кишинев: Штица, 1978. – 247 с.
2. Yaklich R.W.  $\beta$ -Conglicinin and glicinin in high-protein soybean // G. Agric. Food.Chem. – 2000. – Vol. 49. – P. 729–735.
3. Harada J.J., Barker S.J., Goldberg R.B. Soybean  $\beta$ -conglycinin genes are clustered in several DNA regions and are regulated by transcriptional and posttranscriptional processes // Ibid. – 1989. – № 1. – P. 415–425.
4. Takahashi M., Hajika M., Matsunaga R. et al. Breeding soybean variety lacking  $\beta$ -conglycinin by in troduction of Scg gene from wild soybean // In International soybean processing and utilization conference 3. – Tsukuba proceedings. Tsukuba. – The Japanese Society for food and science and technology. – 2000. – P. 45–46.
5. Hayashi M., Harada K., Fujiwara T., Kitamura K. Characterization of a 7S globulin-deficient mutant of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) // Mol. Gen. Genet. – 1998. – Vol. 258. – P. 208–214.
6. Hayashi M.H., Nishioka H., Kitamura K., Harada K. Identification of AFLP markers tightly linked to the gene for deficiency of the 7S globulin in soybean seed an characterization of abnormal phenotypes involved in the mutation // Breeding Sci. – 2000. – № 50. – P. 123–129.
7. Nielsen N.C., Dickinson C.D., Cho T.J. et al. Characterization of the glycinin gene family in soybean // Plant Cell. – 1989. – № 1. – P. 313–328.
8. Guo S.T., Meng Y., Zhang X.M. et al. Analysis of protein subunit composition of Chinese soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] cultivars and screening cultivars lacking some subunits // Acta Agronomica. – 2009. – P. 1130.
9. Moraes R.M.A. Genetic variation and environmental effects on the beta-conglycinin and glycinin content in Brazilian soybean cultures // Pesquisa Agropecuaria Brasileira. – 2006. – Vol. 41. – P. 725–729.
10. Адамовська В.Г., Молодченкова О.О., Сичкар В.І., Цісельська Л.Й., Сагайдак Т.В. Патент на корисну модель № 42181. Спосіб добору сої. 25.06.2009 р.
11. Адамовська В.Г., Молодченкова О.О., Сичкар В.І. та ін. Міжсортний поліморфізм компонентного складу глобулінів та альбумінів насіння сої в зв'язку з якістю білка // Збірник наукових праць СГП. – 2011. – Вип. 18 (58). – С. 89–92.

Представлена В.Г. Михайловим  
Поступила 01.06.2015

### ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ 7S І 11S ГЛОБУЛІНІВ СОРТІВ СОЇ РІЗНОГО ФІЛОГЕНЕТИЧНОГО ПОХОДЖЕННЯ

В.Г. Адамовська, О.О. Молодченкова, Т.В. Картузова, В.І. Сичкар, Г.Д. Лаврова, Л.Я. Безкровная

Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насінництва та сортовивчення  
Україна, 65036, Одеса, Овідіопольська дорога, 3  
e-mail: olgamolod@ukr.net

**Мета.** Метою роботи було вивчення особливостей компонентного складу 7S та 11S глобулінів сої різного філогенетичного походження. **Методи.** При виконанні досліджень були використані методи виділення та ідентифікації 7S та 11S глобулінів сої, розроблені в лабораторії біохімії рослин. **Результати.** Аналіз отриманих результатів показав, що сорти сої різного генетичного походження характеризуються поліморфізмом за вмістом в компонентному складі 7S та 11S глобулінів таких субодиниць, як  $\alpha$ ,  $\alpha^1$ ,  $\beta$ , A3, A5, A та B. **Висновки.** Виявлений за допомогою розроблених біохімічних методів поліморфізм за вмістом певних субодиниць у компонентному складі 7S та 11S глобулінів вказує на можливість їх використання для тестування генотипів сої продовольчого напрямку.

**Ключові слова:** соя (*Glycine max* L., *Glycine soya*), поліморфізм, 7S та 11S глобуліни, субодиниці.

### CHARACTERIZATION OF SUBUNIT COMPOSITION OF 7S AND 11S GLOBULINS FROM SOYBEAN VARIETIES OF DIFFERENT PHYLOGENETIC ORIGIN

V.G. Adamovskaya, O.O. Molodchenkova, T.V. Kartuzova, V.I. Sichkar, G.D. Lavrova, L.Ya. Bezkravnaya

Plant Breeding&Genetic Institute-National Center of Seed and Cultivar Investigation  
3Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopolskaya doroga, 3  
3e-mail: olgamolod@ukr.net

**Aim.** The aim of the work was to study the features of subunit composition of 7S and 11S globulins from soybean varieties of different phylogenetic origin. **Methods.** Isolation and identification of 7S and 11S soybean globulins were performed by the methods developed in the Laboratory of Plant Biochemistry. **Results.** It was found that soybean varieties of different genetic origin are characterized by polymorphism in content of  $\alpha$ ,  $\alpha^1$ ,  $\beta$ , A3, A5 subunits in the composition of 7S and 11S globulins. **Conclusions.** Polymorphism detected by the developed biochemical methods in content of subunits in the composition of 7S and 11S globulins, which influence the human health, suggests the possibility of their use for evaluation of edible soybean varieties.

**Keywords:** soybean (*Glycine max* L., *Glycine soya*), polymorphism, 7S and 11S globulins, subunits.