

АНДАТПА

8D05105 – «Биотехнология» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Сандыбаева Сандуғаш Қалжанқызы

Биологиялық белсенді қоспаларды алу үшін маңызды пигменттерді өндіргіш цианобактериялардың потенциалды штамдарын бөліп алу және скрининг жүргізу

Жұмыстың жалпы сипаттамасы: Диссертациялық жұмыста биологиялық белсенді қоспаларды алу үшін құнды пигменттердің продуценті бола алатын белсенді цианобактерия штамдарын термалды су көздерінен бөліп алу және зерттеу нәтижелері қарастырылған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі:

Бүкіләлемдік азық-түлік бағдарламасының соңғы деректеріне сәйкес, 79 елде рекордтық 349 миллион адам азық-түлік жетіспеушілігінен зардап шегуде. Олардың саны жыл сайын қарқынды өсуде, тіпті қосымша қаржыландыру деңгейі олардың қажеттіліктерін қанағаттандыруға жеткіліксіз болуы мүмкін. Әсіресе, азық-түлік пен жанармай бағасының өсуіне байланысты азық-түлік көмегін жеткізу құнының рекордтық өсуі жағдайды одан әрі ушықтыруда. Сонымен қатар, жаһандық деңгейде энергетикалық дағдарыс, азық-түлік қауіпсіздігі, аурулардың өршуі, жаһандық жылыну және басқа да экологиялық мәселелерге қатысты алаңдаушылық экономикалық жағынан тиімді, тұрақты және жүзеге асырылатын шешімдер қабылдауды талап етеді.

Осы мәселелерді ескере отырып, тағамдық ингредиенттер индустриясы синтетикалық қоспаларды тұрақтылығы, тартымды түсі және төмен құнына байланысты дамытуға көбірек назар аударуда. Алайда, синтетикалық қоспалардың адам денсаулығы мен қоршаған ортаға тигізетін ықтимал кері әсері жөніндегі алаңдаушылықтың артуы, сондай-ақ тұтынушылардың табиғи өнімдерге деген сұранысының ұлғаюы экологиялық таза және биологиялық қауіпсіз тағамдық ингредиенттерді кеңінен қолдануды ынталандыруда.

Осы тұрғыда фототрофты микроорганизмдер бағалы биологиялық белсенді қосылыстардың коммерциялық көзі ретінде ғылыми және биотехнологиялық тұрғыдан маңызды объект болып табылады. Бірақ организмдердің алуантүрлілігіне байланысты олардың потенциалы әлі толық зерттелмеген. Бұл организмдердің клеткаларында оңай сіңірілетін ақуыздар, липидтер және полисахаридтер, сондай-ақ альфа- және гамма-линолен қышқылдары бар қанықпаған май қышқылдары, каротиноидтар, хлорофилл, фикоцианин, макро- және микроэлементтер сияқты ерекше биологиялық белсенді қосылыстар кездеседі.

Цианобактериялар әртүрлі ортада тіршілік ету қабілетімен және кең метаболикалық мүмкіндіктерімен ерекшеленеді. Олар антибактериялық, саңырауқұлақтарға, вирустарға қарсы және антиоксиданттық қасиеттерге ие биологиялық белсенді қосылыстардың кең спектрін өндіруге қабілетті, бұл оларды фармацевтика мен ауыл шаруашылығында перспективті

биотехнологиялық объект ретінде қарастыруға мүмкіндік береді. Әсіресе, табиғи пигменттер – хлорофиллдер, каротиноидтар (каротиндер және ксантофиллдер) және фикобилипротеиндер (С-фикоцианин, аллофикоцианин және С-фикоэритрин) ерекше құндылыққа ие. Бұл қосылыстар өздерінің бірегей биохимиялық қасиеттері мен табиғи шығу тегіне байланысты косметика, тағам және тоқыма өнеркәсібінде маңызды орын алуда.

Хлорофилл фотосинтездік белсенділік үшін негізгі рөл атқарады және барлық фотосинтетикалық микроорганизмдер мен цианобактерияларда кездеседі. Каротиноидтар бірінші және екінші реттік пигменттер болуы мүмкін, олардың профилі түріне және өсу жағдайына байланысты өзгереді. Коммерциялық қолжетімді ең танымал каротиноидтарға астаксантин, лютеин және β -каротин жатады. Фикобилипротеиндер тек цианобактерияларда және қызыл балдырларда кездесетін ерекше пигменттер класы болып табылады және жарықты сіңіруде маңызды қызмет атқарады. Бұл үш пигмент класының комбинациясы көрінетін спектрдің кең диапозынында цианобактериялардың жарықты тиімді сіңіруін қамтамасыз етеді және олардың физикалық-химиялық қасиеттері мен биологиялық функциялары биотехнология саласында зерттеу үшін маңызды.

Термофильді цианобактериялар Жердегі ежелгі тіршілік формаларының аналогы ретінде және термостабильді биомолекулалардың құнды объект ретінде ғылыми қызығушылық тудырады. Олардың жоғары температурада тіршілік етуін және жасушалық компоненттерді тұрақтандыруды қамтамасыз ететін қаныққан май қышқылдары, липидтер және жылу шок белоктарын өндіру сияқты бейімделу механизмдері бар. Сонымен қатар, олар жарықтың жоғары қарқындылығы мен ультракүлгін сәулеленуден қорғайтын бірегей пигменттік композицияларға ие, бұл оларды ауыл шаруашылығында, фармацевтикада, нутрицевтикада және биожанармай өнеркәсібінде қолдануда перспективтілігін арттырады.

Алайда, барлық цианобактерия штамдары пигменттерді өндіруде бірдей тиімді емес. Олардың өнімділігіне өсіру жағдайлары елеулі әсер етеді. Сондықтан, пигменттердің тиімді продуценттері болып табылатын потенциалды цианобактерия штамдарын іздестіру және бөліп алу, сондай-ақ олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру қажет. Бұл зерттеу биологиялық белсенді қоспалар өндірісі мен тағам өнеркәсібінде жоғары потенциалға ие микроорганизм штамдарының арсеналын кеңейтуге бағытталған. Зерттеу тақырыбы өзекті, өйткені ол маңызды ғылыми және әлеуметтік мәселені шешуге ықпал етеді және жаңа іргелі білім алуға, әрі оның практикалық қолдануына мүмкіндік береді.

Зерттеу жұмысының мақсаты:

Цианобактериялардың жаңа штамдарын термалды су көздерінен бөліп алу және идентификациялау, олардың биомассасынан пигменттерді алу үшін морфологиялық, физиологиялық және биохимиялық қасиеттерін зерттеу.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Термалды су көздерінен цианобактериялардың аксеникалық таза дақылдарын бөліп алу және идентификациялау;

2. Цианобактерия штамдарының биомасса өнімділігі мен клеткадағы биоактивті заттардың жиналу деңгейі бойынша скрининг жүргізу.

3. Таңдалған жоғары өнімді цианобактерия штамдары клеткасының пигменттік құрамын зерттеу және олардың өнімділігі мен пигменттердің жиналуын арттыру үшін өсіру параметрлерін жетілдіру.

4. Цианобактерия биомассасынан алынған экстрактілерінің биологиялық белсенділігін кешенді бағалау.

5. Цианобактерия биомассасына негізделген белсенді пигменттерді алу бойынша лабораториялық регламент әзірлеу.

Зерттеу объектілері:

Зерттеу объектілері ретінде Алматы облысы, Ұйғыр ауданы, Шонжы елді мекенінің термалды су көздерінен бөлініп алынған *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, *Phormidium ambiguum* CZS 2205, *Nostoc calcicola* TSZ 2203, *Trichormus variabilis* ВК-1 және *Synechococcus* sp. CZS 2204 жаңа цианобактерия штамдары қолданылды.

Зерттеу әдістері:

Жұмыс барысында микробиологиялық, альгологиялық, биотехнологиялық, молекулалық-генетикалық, физика-химиялық және статистикалық әдістер қолданылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

Алғаш рет Алматы облысы, Ұйғыр ауданы, Шонжы елді мекені ыстық су көздеріндегі фототрофты микроорганизмдердің альгологиялық құрамы мен алуантүрлілігі зерттелді. Нәтижесінде цианобактериялардың 8 аксеникалық дақылы бөлініп, олардың морфологиялық-дақылдық қасиеттері анықталды. Бөлінген дақылдардың өнімділігі мен олардың клеткасында биоактивті заттардың (ақуыздар, липидтер, май қышқылдары және т.б.) жинақтау деңгейі бойынша скрининг жүргізілді. Таңдалып алынған *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, *Phormidium ambiguum* CZS 2205, *Nostoc calcicola* TSZ 2203 және *Synechococcus* sp. CZS 2204 белсенді штамдарының клеткалық пигменттік құрамына сапалық және сандық талдау жүргізілді. Лабораториялық зерттеулер негізінде бірінші рет *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201 цианобактерия биомассасынан тазалығы кемінде 93% болатын гликозилденген каротиноид – миксоксантофилл пигменті бөліп алынды.

Цианобактерия штамдарының клеткаларынан алынған белсенді кешендік экстрактілерінің MiaPaCa2 (ұйқы безі карциномасы), HepG2 (бауыр карциномасы) және K562 (адам миелолейкозы) қатерлі ісік клетка линияларының өсуі мен пролиферациясына, сондай-ақ тышқандардың сүйек кемігінің иммунокомпетентті клеткаларына *in vitro* жағдайда иммуномодуляциялық әсері бағаланды.

Жұмыстың ғылыми және практикалық маңызы:

Өнімділігі жоғары, бірегей биохимиялық және физиологиялық қасиеттерге ие пигменттердің продуценті бола алатын цианобактериялардың *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, *Phormidium ambiguum* CZS 2205, *Nostoc calcicola* TSZ 2203 және *Synechococcus* sp. CZS 2204 жаңа штамдары термалды су көздерінен бөлініп алынды.

Бөлініп алынған цианобактерияларының штамдары биотехнологиялық мәселелерді шешуде қолдану үшін әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің фототрофты микроорганизмдер коллекциясына енгізілді.

Барлық зерттелген цианобактерия штамдары "QazBioPharm" ұлттық холдингінің жанындағы «Республикалық микроорганизмдер коллекциясы» ЖШС-де 2023 жылғы 19 қазаннан PKM1063, PKM1060, PKM1061 және PKM1062 нөмірлері бойынша депонирленді.

Сонымен қатар, 2024 жылғы 27 қыркүйекте № 9607 «*Oscillatoria subbrevis* CZS 2201 цианобактерия штамы гликозилденген каротиноид – миксоксантофилл алу үшін шикізат ретінде» пайдалы модельге патент алынды.

Қорғауға шығарылған негізгі қағидалар:

1. Алматы облысы, Ұйғыр ауданы, Шонжы термалды су көздерінен *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Synechocystis*, *Spirulina*, *Trichormus* және *Synechococcus* туыстарына жататын цианобактериялардың альгологиялық және бактериологиялық таза (аксеникалық) дақылдары бөлініп алынды.

2. Бөлініп алынған штамдарға молекулалық-генетикалық идентификация жүргізілді және олар таксономиялық тұрғыдан *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, *Phormidium ambiguum* CZS 2205, *Nostoc calcicola* TSZ 2203, *Trichormus variabilis* BK-1 және *Synechococcus* sp. CZS 2204 ретінде расталды. Олардың 16S рРНҚ гендерінің тізбегі халықаралық NCBI дерекқорына енгізілді және сәйкестендірудің сенімділігін растайтын OQ627016, OQ646791, OQ627023, OL780782 және OQ627024 тіркеу нөмірлері берілді.

3. *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201 және *Phormidium ambiguum* CZS 2205 штамдары ең жоғары құрғақ биомасса және ақуыз жинақталуымен сипатталады. *Synechococcus* sp. CZS 2204 штамы α -линолен қышқылының ең жоғары құрамымен ерекшеленеді, ал *Nostoc calcicola* TSZ 2203 эйкозапентаен қышқылының ең өнімді синтетикалық көзі ретінде анықталды.

4. *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201 штаммы зерттелген үлгілер арасында хлорофилл *a*, жалпы каротиноидтар, сондай-ақ С-фикоцианин, С-аллофикоцианин және С-фикоэритриннің жоғары құрамымен сипатталады.

5. *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201 және *Phormidium ambiguum* CZS 2205 цианобактерия биомассасынан алынған белсенді кешендік экстрактілері иммуномодуляциялық қасиетке ие бола отырып, тышқанның сүйек кемігінен алынған иммунокомпетентті клеткалардың өсуіне оң әсер етеді және жаңа лимфоцит колонияларының түзілуін ынталандырады.

6. *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201 биомассасынан гликозилденген каротиноид – миксоксантофилл алу бойынша лабораториялық регламент әзірленді.

Автордың жеке үлесі

Зерттелетін мәселеге қатысты әдеби деректерге талдау, жұмыстың мақсат-міндеттерін анықтау, тәжірибелік зерттеулерді жүргізу, нәтижелерді статистикалық өңдеу және талдау, диссертацияны жазу мен қол жазбаны рәсімдеу автордың жеке қатысуымен орындалды.

Жұмыстың мемлекеттік бағдарламалар жоспарымен байланыстылығы

Диссертациялық жұмыс АР14870171 «Фототрофты микроорганизмдердің биологиялық белсенді заттарының негізінде жаңа отандық биопрепараттар жасау» (2022-2024 жж.) жобасының шеңберінде орындалды.

Жұмыстың сыннан өтуі:

Зерттеу нәтижелері және диссертациялық жұмыстың негізгі қағидалары төмендегідей халықаралық ғылыми конференциялар мен симпозиумдарда баяндалды және талқыланды:

1. «Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy» атты Халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы, 12-13 ақпан 2021 жыл, Алматы, Қазақстан
2. «Еуразияның биоалуантүрлілігі бойынша 5-ші симпозиум (Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2021))» 1-3 шілде 2021 жыл, Алматы, Қазақстан, Мугла, Түркия.
3. Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» атты халықаралық ғылыми конференциясы, 6-9 сәуір 2022/2023 жыл, Алматы, Қазақстан;
4. «Еуразияның биоалуантүрлілігі бойынша симпозиум (Symposium on EuroAsian Biodiversity SEAB-2023), 6-8 қыркүйек 2023 жыл, Баку, Әзірбайжан.
5. «Абу Әли Ибн Сина және қазіргі фармацевтикадағы инновациялар» атты VII Халықаралық ғылыми-практикалық конференция, 16-18 наурыз 2024 жыл, Ташкент, Өзбекстан Республикасы.
6. «Жаһандық энергетикалық кездесу» (Global Energy Meet) атты халықаралық ғылыми конференция, 4-8 наурыз 2024 жыл, Лос-Анджелес, Калифорния, АҚШ.

Басылымдар

Диссертацияның негізгі құрамы 19 басылып шыққан жұмыстарда көрсетілген, олардың ішінде: 5 мақала – ҚР білім және ғылым саласын бақылау бойынша Комитет тізіміндегі республикалық ғылыми журналдарда, Web of Science және Scopus деректер базаларында рецензияланатын Q1 журналда – 2 ғылыми мақалалар және Q2 журналда – 1 шолу, сонымен қатар халықаралық конференцияларда 1 мақала және 10 тезис жарияланды.

Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі

Диссертациялық жұмыс 117 компьютерлік мәтіннен және белгілер мен қысқартылған сөздерден, кіріспе, әдебиетке шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды және 270 пайдаланылған әдебиеттерден тұрады. Жұмыстың көлеміне 6 кесте, 31 сурет және 2 қосымша кіреді.