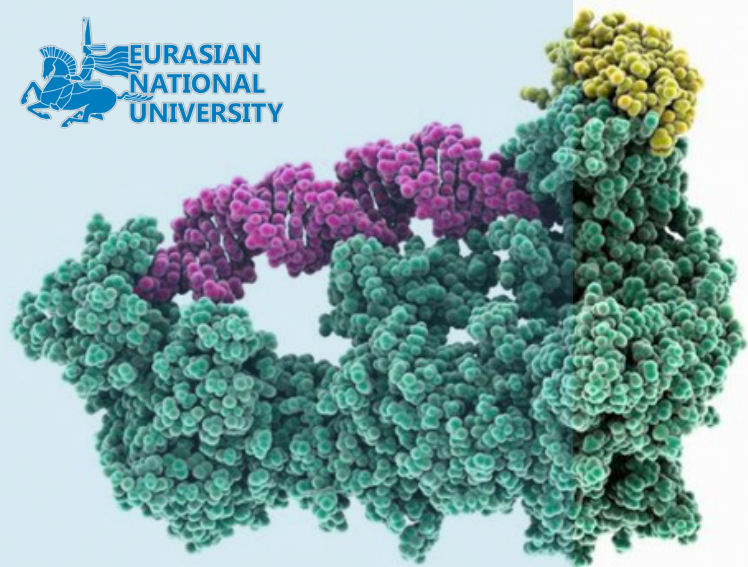


ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРЛІГІ  
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ



Л. Н. ГУМИЛЕВА АТЫНДАҒЫ  
ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ЕВРАЗИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
Л. Н. ГУМИЛЕВА

АСТАНА, ҚАЗАҚСТАН  
11 СӘУІР 2024 ЖЫЛ

АСТАНА, КАЗАХСТАН  
11 АПРЕЛЯ 2024 ГОД

"ОМАРОВ ОҚУЛАРЫ: ХХІ  
ҒАСЫРДЫҢ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ  
БИОТЕХНОЛОГИЯСЫ" АТТЫ  
ХАЛЫҚАРАЛЫҚ ҒЫЛЫМИ  
ФОРУМНЫҢ БАЯНДАМАЛАР  
ЖИНАҒЫ

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ  
МЕЖДУНАРОДНОГО НАУЧНОГО  
ФОРУМА "ОМАРОВСКИЕ ЧТЕНИЯ:  
БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ  
ХХІ ВЕКА"

**УДК 57 (063)**  
**ББК 28.0**  
**Ж 66**

Жалпы редакцияны басқарған т.ғ.д., профессор Е.Б. Сыдықов  
Под редакцией д.и.н., профессора Е.Б. Сыдыкова

**Редакция алқасы:**  
**Редакционная коллегия:**

Ж.К. Масалимов, А.Б. Курманбаева, Ж.А.Нурбекова, Н.Н. Иқсат.

«Омаров оқулары: ХХІ ғасыр биология және биотехнологиясы» халықаралық ғылыми форумының баяндамалар жинағы. – Астана: Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, 2024. – 284 б., қазақша, орысша, ағылшынша.

Сборник материалов международного научного форума «Омаровские чтения: Биология и биотехнология ХХІ века». – Астана. Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, 2024. – 284 с., казахский, русский, английский.

ISBN 978-601-337-977-7

Жинақ «Омаров оқулары: ХХІ ғасыр биология және биотехнологиясы» атты халықаралық ғылыми форумна қатысушылардың баяндамаларымен құрастырылған. Бұл басылымда биология, биотехнология, молекулалық биология және генетиканың маңызды мәселелері қарастырылған. Жинақ ғылыми қызметкерлерге, PhD докторанттарға, магистранттарға, сәйкес мамандықтағы студенттерге арналған.

Сборник составлен по материалам, представленным участниками международного научного форума «Омаровские чтения: Биология и биотехнология ХХІ века». Издание освещает актуальные вопросы биологии, биотехнологии, молекулярной биологии и генетики. Сборник рассчитан на научных работников, PhD докторантов, магистрантов, студентов соответствующих специальностей.

ISBN 978-601-337-977-7



**УДК 57**  
**ББК 28**  
**О-58**

©Коллектив авторов, 2024  
©Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, 2024

12. Kusvuran, S., Kiran, S., & Ellialtioglu, S. S. (2016). Antioxidant Enzyme Activities and Abiotic Stress Tolerance Relationship in Vegetable Crops. InTech. doi: 10.5772/62235
13. Mittler R. ROS are good. Trends Plant Sci. 2017;22:11–19. doi: 10.1016/j.tplants.2016.08.002.
14. Shraboni Ghosh, Manoj Majee, Chapter Fifteen - Protein l-isoAspartyl Methyltransferase (PIMT) and antioxidants in plants, Editor(s): Gerald Litwack, Vitamins and Hormones, Academic Press, Volume 121, 2023, Pages 413-432, ISSN 0083-6729, ISBN 9780443157684, <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2022.10.005>
15. Wu C., Xu D., Ge M., Luo J., Chen L., Chen Z., You Y., Zhu Y.-X., Lin H., Shi J. Blocking glutathione regeneration: Inorganic NADPH oxidase nanozyme catalyst potentiates tumoral ferroptosis. Nano Today. 2022;46:101574. doi: 10.1016/j.nantod.2022.101574.
16. Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Zulfiqar F, Raza A, Mohsin SM, Mahmud JA, Fujita M, Fotopoulos V. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. Antioxidants (Basel). 2020 Jul 29;9(8):681. doi: 10.3390/antiox9080681. PMID: 32751256; PMCID: PMC7465626.

UDC577

### **Solid-phase synthesis of oligonucleotides, purification and their application**

*Auganov Almas<sup>1,2</sup>, Tynysbekov Bekbolat<sup>1,2</sup>, Kasenova Aigul<sup>1</sup>, Akhmetollaev Ilyas<sup>2</sup>*

L.N.Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan<sup>1</sup>

National Center for Biotechnology, Astana, Kazakhstan<sup>2</sup>

### **Introduction**

Advances in molecular biology have led to the development of oligonucleotides – short sequences of both DNA or RNA molecules, which have identified numerous applications not only in research areas, but also in therapeutical and forensic sciences[1]. The solid-phase supported technique is a widely used method for manufacturing DNA oligonucleotides. The synthesis proceeds in the 3' → 5' direction, in contrast to biosynthesis. Preparation of such molecules incorporates a number of steps, including detritylation, coupling, oxidation and capping processes[2]. Automated solid-phase oligodeoxynucleotide synthesizers employ 5'-protected deoxynucleosides linked to a controlled pore glass, known as CPG, that support at the 3' end via a chemically cleavable linker. The phosphoramidite or solid-phase approach uses deoxynucleosides (dA, dC, dG and dT), ribonucleosides (A, C, G and U), modified nucleosides as building blocks in the synthesis. This technique is commonly utilized in modern laboratory operations due to its great efficiency and low cost of production of oligomers with defined structure.

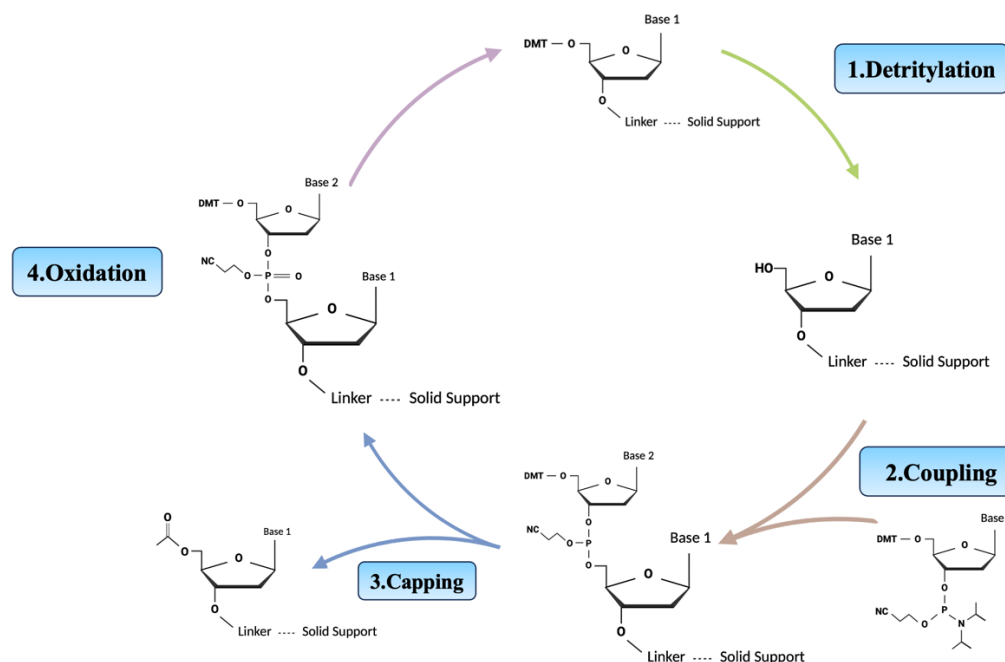


Figure 1  
Solid support-linked 4-step oligonucleotide synthesis cycle  
DMT-Dimethoxytrityl; N-1-Methylimidazole/N-methylimidazole

### Methods and materials

For a long while, the main method of chemically synthesizing of oligomers has been the four-step process (Figure 1) which applies the reaction of acid-activation of deoxynucleoside phosphoramidites by using solid phase supported deoxynucleosides. In the beginning of synthesis the 5'-O-DMT (Dimethoxytrityl) or protecting group is removed from the nucleoside connected to the polymer support. In the next stage, coupling, the free 5'OH end of the first deoxynucleoside replaces the diisopropylamino group of second nucleoside causing the process of elongation of growing nucleotide. Capping – is an intermediate procedure, where the deoxynucleosides with non-reacted 5'OH are acetylated to prevent the extension of oligomers with failures in sequences. The idea of oxidation step is to convert non-stable phosphite group into a stable phosphate triester via adding the atom of oxygen. The stage permits the following cycle to proceed to step one, the detritylation of second nucleotide. The finished product is devoid of base and DMT (protective groups) after being treated with 40% ammonium hydroxide solution[3].

Reagents	Description
W1/W2	Washing solutions
DbI	Deblocking solution
CpA	Component of capping solution (A)
CpB	Component of capping solution (B)
Oxd	Oxidation solution
R2	Additional reactive for synthesis
Act1	Activator
Monomers	Solutions of phosphoramidites (dA, dC, dG and dT)

Table 1. List of required reagents for synthesis and their short description

DNA/RNA oligonucleotide synthesizers employ a range of chemicals to produce single-stranded molecules. As it is provided in the Table 1, a list of required reagents are specified.

During the synthesis, the solutions “W1” and “W2” are used to wash the reaction columns. The solutions include acetonitrile, however the “W1” solution is anhydrous, with less than 30 ppm of H<sub>2</sub>O, whereas the “W2” solution has a rate of 150-180 ppm of H<sub>2</sub>O. The “Dbl” or “Deblocking solution” plays a certain role during the detritylation phase. "Capping solutions “A” and “B” are also necessary in the production of oligomers due to their ability to eliminate molecules with unreacted 5'OH ends. The "Oxd" or "Oxidation solution" plays a significant role in converting the phosphite part of oligonucleosides into phosphate triesters. "Act1" is an important component made of ETT (EthylTioTetrazole), and its primary role is to activate essential reactives at various stages of the synthesis. "R2" means additional solution, such as dichloromethane or other compounds. Finally, “Monomers” are the solutions containing various phosphoramidites such as deoxyadenosine, deoxycytidine, deoxyguanosine and deoxythymidine.

The automated oligonucleotide synthesizer uses a variety of reaction columns to complete the synthesis. They are commonly composed of Teflon (a fluoropolymer) fitted with porous foil filters. The working capacity of these reaction columns ranges from 6 to 50 microliters, and the number of produced molecules can range from 20 to 400 nanomoles. Other types of columns that might be utilized for the synthesis include polypropylene columns with porous polyethylene filters. Oligomers may be synthesized using reaction columns in quantities of 0,04, 0,2, 1, and 15 micromole. Figure 2 shows the construction of a reaction column with porous foiled filters. The interior component is made up of controlled pore glass, or CPG, which contains various phosphoramidites such as deoxyadenosine, deoxycytidine, deoxyguanosine and deoxythymidine. The exterior side, as previously noted, is made of an organic composition.

*The sequence in which reaction columns are prepared for the synthesis:*

1. Choose an empty column with the appropriate volume based on the scale of the synthesis.
2. Install the first porous foil or filter.
3. Fill the column with polymer (CPG).
4. Install a second porous foil/filter.

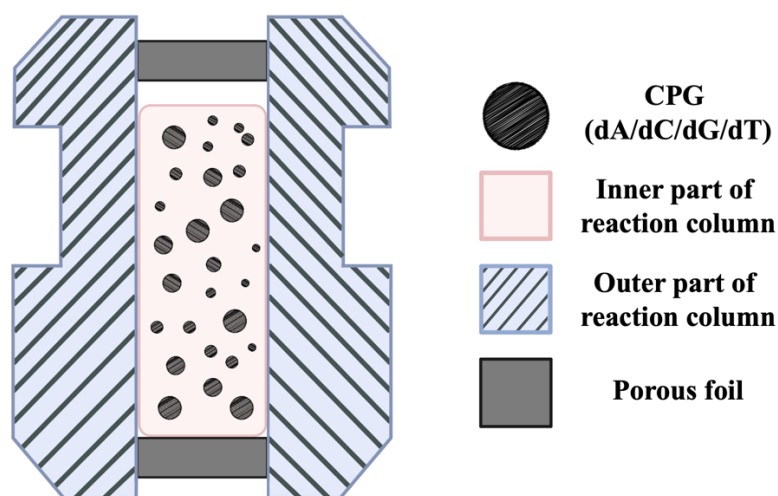


Figure 2. Structure of the reaction column

### Purification

Chromatography is a widely used separation technology for biomolecules in research, pharmaceutical and other fields. Often, numerous chromatographic stages are necessary to achieve the requisite high purity of oligonucleotides. AEC (Anion Exchange Chromatography) is the preferred method for distinguishing oligonucleotides of varying lengths with N-x deletions. If it is needed to separate oligonucleotides with distinct base sequences, IP RP (Ion-Pair

Reversed-Phase) chromatography is the best option. Furthermore, it is quite adaptable and may be used to tackle various separation difficulties such as duplexes, RNA/DNA mixes, and stereoisomeric oligonucleotides[4]. Using HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) is also an excellent choice for purifying oligomers of various lengths in sequences with high level of purity[5]. Another one technique for analyzing and classifying immunotherapeutic and diagnostic oligonucleotides has been devised that combines liquid chromatography and mass-spectrometry (LC-MS). Using certain buffers allow the effective separation of native and modified antisense oligonucleotides (AS-ODNs) from secondary products or those with failures during the synthesis. The mobile phases are MS compatible, enabling for direct and sensitive examination of components that eluted from the column. Tandem LC-MS analysis establishes the identification of the oligonucleotide failed products and the existence of protection groups that were not removed during synthesis, and the level of depurination or phosphorothioate backbone oxidation[6].

### **Application**

Oligonucleotides, short sequences of nucleotides, exhibit diverse applications across molecular biology, diagnostics, and therapeutics owing to their programmable nature and specific molecular recognition properties. Oligomers, primarily, act as forward and reverse primers during the PCR (Polymerase Chain Reaction) contributing for various molecular biology research by amplifying the targeted sequence of DNA. In diagnostics, the molecules have a wide range of applications, such as the therapies, including the antisense oligonucleotides that contribute for the treatment of various neurodegenerative diseases, for instance, amyotrophic lateral sclerosis, Huntington's and Alzheimer's diseases[7]. Also, there are more than two hundred clinical trials were confirmed with using the oligonucleotides, antisense oligonucleotides and other smaller molecules in the treatment of cancer, tumor, neoplasm and carcinoma[8]. Oligonucleotide treatments, such as ASO, microRNA (miRNA) and small interfering RNA (siRNA), are now being studied both pre-clinically and clinically as possible medicines for a variety of disorders, including asthma, COPD (Chronic Obstructive Pulmonary Disease), and IPF (Idiopathic Pulmonary Fibrosis)[9].

### **References:**

1. Kerlin R.L., Li X. Pathology in Non-Clinical Drug Safety Assessment // Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology, Third Edition: Volume 1-3. Elsevier, 2013. Vol. 1–2. P. 725–750.
2. Lönnberg H. Synthesis of oligonucleotides on a soluble support // Beilstein Journal of Organic Chemistry. Beilstein-Institut, 2017. Vol. 13. P. 1368.
3. Crooke S. Oligonucleotide Synthesis. Methods and Applications Edited by Piet Herdewijn. Humana Press, Totowa, NJ. 2004. xi + 435 pp. 15.5 × 23.5 cm. ISBN 1-588-29-233-9. \$125.00. // J Med Chem. American Chemical Society, 2005. Vol. 48, № 8. P. 3090–3090.
4. Minkner R. et al. Oligonucleotide separation techniques for purification and analysis: What can we learn for today's tasks? // Electrophoresis. John Wiley and Sons Inc, 2022. Vol. 43, № 23–24. P. 2402–2427.
5. Vonk E.C. et al. Separation and characterization of oligomers by reversed-phase high-performance liquid chromatography: a study on well-defined oligothiophenes // J Chromatogr A, 2001. Vol. 911, № 1. P. 13–26.
6. Gilar M. et al. Characterization of Therapeutic Oligonucleotides Using Liquid Chromatography with On-line Mass Spectrometry Detection // OLIGONUCLEOTIDES. 2003. Vol. 13. 229–243 p.
7. Bennett Frank C., Krainer A.R., Cleveland D.W. Antisense Oligonucleotide Therapies for Neurodegenerative Diseases // Annu Rev Neurosci. Annu Rev Neurosci, 2019. Vol. 42. P. 385–406.
8. Xiong H., Veedu R.N., Diermeier S.D. Recent Advances in Oligonucleotide Therapeutics in Oncology // Int J Mol Sci. Int J Mol Sci, 2021. Vol. 22, № 7.

9. Liao W. et al. Oligonucleotide Therapy for Obstructive and Restrictive Respiratory Diseases // *Molecules*. *Molecules*, 2017. Vol. 22, № 1.

### ***N. benthamiana* өсімдігіне температура мен вирустың бірлескен стрессінің әсері**

*Сарсенбек Жансая Саматқызы, Иқсат Нұргүл Нұрқанатқызы,  
Бектурова Асемгуль Жамбуловна*

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, биотехнология және  
микробиология кафедрасы, Астана, 010008, Қазақстан

#### **Жұмыстың өзектілігі:**

Өсімдіктер стресстік жағдайларға көбірек ұшырайды. Бұл әртүрлі стресс факторларының өсімдіктерді биохимиялық, физиологиялық, молекулярлық тұтастығына қалай әсер ететінін түсіну қажеттілігін тудырады. Сонымен қатар өсімдіктердің стресске бейімделу механизмдері және өсімдіктердің өзгеретін климаттық жағдайларға реакциясы туралы білімімізді кеңейтуге ықпал етеді. Осы саладағы зерттеулер өсімдіктердің стресске төзімділігін жақсарту және ауылшаруашылық өндірісін оңтайландыру үшін жаңа әдістер мен технологиялардың дамуына әкелуі мүмкін.

#### **1. Кіріспе**

Өсімдіктер түрлі стресске ұшырауы мүмкін, соның ішінде абиотикалық, биотикалық стресс деп бөліп қарастырамыз. Атап айтатын болсақ, тұздану, төмен және жоғары температуралар, химиялық ластағыш заттар, сондай-ақ биотикалық стресс (вирус, бактерия, саңырауқұлақтар) түрлі қоздырғыштар, нематодтар, жәндіктер, кеміргіштер [1].

Ауылшаруашылығында абиотикалық стресстер дақылдардың өнімділігін дүниежүзі бойынша шамамен жылына 50% дейін төмендетеді [2]. Соның ішінде қазіргі таңда өте ауқымды мәселелердің бірі - жоғары температура [3]. Ол өсімдіктің өсуіне ықпал ете қоймай, өнімділігіне де тікелей әсер етеді. Өсімдіктің қолайлы өсу температурасына сай келмейтін экстремальды температуралар қатаң түрде өсімдікке кері әсерін тигізеді, клеткалық гомеостаз бұзылуы мен тіптен өсімдіктің өліп кетуіне дейін апарды [4].

Температуралық стресске тұрақтылық көрсететін түрлі механизмдер жауапты екені белгілі, оған жасуша мембранасының тұрақтылығын сақтау, оттегінің белсенді түрлерін азайту, антиоксиданттардың синтезделуі, осморегуляциялау, шаперондардың транскрипциясы мен сигнал беруін күшейтетін және стресске жауапты киназалардың активтенуі жатады [5].

Сонымен қатар, жоғары температура өсімдік вирустарын тарататын буынаяқтылардың көбеюіне алып келеді, осылайша вирустық эпидемиялар тез дамып, вирустық аурулармен күресу шараларына кедергі келтіреді [6,7]. Температураның өзгеруі вирустардың клетка қожайынында жасушаралық және жүйелік орын ауыстыруына, репликациясына әсер ететіні анықталды. Жалпы, жоғары температура өсімдіктердегі вирустың таралуын күшейтеді, бірақ температура белгілі бір вирустың оңтайлы деңгейінен асып кетсе, оның таралуына кедергі келтіреді. Мысалы, *Nicotiana tabacum* өсімдігінде Темекі мозаикалық вирусы (TMV) көбеюі жылдамдығы температура 20°C тан 32°C-қа дейін көтерілген сайын артып, 32°C-тан жоғары болған кезде тежелді [8].

#### **2. Зерттеу нысандары мен әдістері**

##### **2.1 Өсімдік материалы және өсу шарттары**