

Краткое сообщение

УДК 57.088.1

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-3-03



Молекулярно-генетический инструментарий для анализа дифференциальной экспрессии генов субъединиц β -конглицининов сои

А. А. Катрушенко, П. Д. Тимкин, А. А. Пензин

Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Благовещенск, Амурская область, Россия

Автор, ответственный за переписку: Анастасия Андреевна Катрушенко, aak@vniiso.ru

Большая часть белков в семенах сои являются запасными, среди которых β -конглицинины и глицинины, необходимы растению для прорастания семян. В то же время, они являются наиболее ценными соевыми белками, используемыми в пищевой промышленности, так как их субъединичный состав и доля от общего белка может влиять на качество получаемого пищевого продукта. β -конглицинины являются тримерами, состоящими из разного состава субъединиц, обозначаемых как α' , α , β и кодируемых генами *CG-1*, *CG-3* и *CG-4* соответственно. Для ПЦР-анализа использовали модельный сорт сои 'Сентябринка'. В качестве матрицы использовали комплементарную ДНК, синтезированную на основе РНК, выделенной из семян исследуемого сорта. Применяли пары праймеров к транскриптам генов *CG-1*, *CG-3* и *CG-4*, созданные *in silico*. В результате ПЦР и анализа полученных электрофореграмм подобраны оптимальные температуры отжига праймеров для генов *CG-1*, *CG-3* и *CG-4*, при которых проявляется только характерный фрагмент. Таким образом, для комплексного изучения качественного и количественного состава соевого белка создан молекулярно-генетический инструментарий, с помощью которого можно осуществлять дальнейший анализ дифференциальной экспрессии генов, отвечающих за синтез субъединиц β -конглицининов сои.

Ключевые слова: соевые белки, *CG-1*, *CG-3*, *CG-4*, количественная ПЦР в реальном времени

Благодарности: работа выполнена в рамках федерального проекта «Аграрная наука – шаг в будущее развития АПК» по теме № 082-3-2023-0007

Для цитирования: Катрушенко А.А., Тимкин П.Д., Пензин А.А. Молекулярно-генетический инструментарий для анализа дифференциальной экспрессии генов субъединиц β -конглицининов сои. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(3):53-60. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-3-03

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Катрушенко А.А., Тимкин П.Д., Пензин А.А., 2024

Brief communication

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-3-03

A molecular genetic toolkit for the differential expression analysis of soybean β -conglycinin subunit genes

Anastasia A. Katrushenko, Pavel D. Timkin, Andrey A. Penzin

Federal Research Center «All-Russian Research Institute of Soybean», Blagoveshchensk, Amur Region, Russia

Corresponding author: Anastasia A. Katrushenko, aak@vniisoi.ru

The majority of proteins in soybean seeds are storage ones, including β -conglycinin and glycinin, which are necessary for seed germination. At the same time, they are the most valuable soy proteins used in the food industry, since their subunit composition and proportion of total protein can affect the quality of the resulting food product. β -conglycinins are trimers with different composition of subunits which are designated as α' , α , β and encoded by the *CG-1*, *CG-3*, and *CG-4* genes, respectively. The PCR analysis employed a model soybean cultivar 'Sentyabrinka'. A complementary DNA synthesized from the RNA isolated from seeds of the studied cultivar served as a template. The *in silico* created pairs of primers for *CG-1*, *CG-3*, and *CG-4* gene transcripts were used. As the result of PCR and the analysis of the obtained electrophoregrams, optimal annealing temperatures of primers for the *CG-1*, *CG-3* and *CG-4* genes were selected, at which only the characteristic fragment was observed. Thus, a molecular genetic toolkit has been developed for a comprehensive study of the qualitative and quantitative composition of soybean protein and can be used for further analysis of differential expression of genes responsible for the synthesis of β -conglycinin subunits.

Keywords: soybean proteins, *CG-1*, *CG-3*, *CG-4*, quantitative real-time PCR

Acknowledgements: The work was carried out within the framework of the Federal project "Agrarian science – a step into the future development of the agro-industrial complex" on topic No. 082-3-2023-0007

For citation: Katrushenko A.A., Timkin P.D., Penzin A.A. A molecular genetic toolkit for the differential expression analysis of soybean β -conglycinin subunit genes. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(3):53-60. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-3-03

Financial transparency: The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Katrushenko A.A., Timkin P.D., Penzin A.A., 2024

Введение

Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) широко используется во всем мире в качестве продукта питания человека, кормов для животных и сырья для промышленности (Van Den Berg et al., 2022). Это ценная зернобобовая культура с большим содержанием белка в семенах, которое составляет примерно 40%. Большая часть, около 70% запасных белков семян, приходится на β -конглицинин и глицинин с коэффициентами седиментации 7S и 11S соответственно. Они используются семенем для прорастания (Hooker et al., 2023). У этих белков различные физико-химические свойства, которые определяются структурными особенностями их молекул, что может быть использовано при приготовлении пищевых продуктов из сои (Fukushima, 2011). Они влияют на вкус, текстуру, термостойкость и другие свойства таких продуктов как тофу, соевое мясо, фаршковые изделия, десерты, соусы и т. д. (Tang, 2019, Qin et al., 2022). Однако соевые семена содержат и вещества, не обладающие питательными свойствами, и даже препятствующие усвоению питательных веществ, например, ингибиторы протеаз и агглютинины. Кроме того, белки сои могут вызывать аллергию как у людей, так и у животных (Zhao et al., 2021, Siddique et al., 2024). В последнее время возрос интерес к изучению β -конглицинина из-за его аллергенности и в то же время возможной пользы для здоровья, что обуславливает интерес исследователей

к этому белку и разработку пищевых продуктов и ингредиентов на его основе (Wang et al., 2014, Wiederstein et al., 2023).

β -конглицинин представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 180 кДа. Он состоит из трех субъединиц α' , α и β с молекулярными массами 71, 67 и 50 кДа соответственно, характеризующихся сходными аминокислотными последовательностями. Субъединицы комбинируются случайным образом, образуя три гомотримера и семь гетеротримеров (Sui et al., 2021). В других работах не было обнаружено сведений о субъединичном составе у разных сортов. Запасные белки синтезируются в семенах на более поздних стадиях развития. Гены β -конглицинина на ранних стадиях показывают низкие уровни экспрессии; ее максимальные значения наблюдаются при массе семядоли 100-200 мг (Jones, Vodkin, 2013; Peng et al., 2021). В таблице 1 показаны цифровые подсчеты экспрессии генов субъединиц β -конглицинина в семенах на 14-й, 21-й, 25-й, 28-й, 35-й и 42-й дни после цветения (согласно международной базе данных SoyBase, 2024).

Между различными генотипами существуют явные различия в количественном соотношении разных фракций запасных белков. Меньшее количество глицинина сопровождается накоплением β -конглицинина, так что сумма этих запасных белков остается одинаковой независимо от общего содержания белка (Yang et al., 2016).

Таблица 1. Экспрессия генов β -конглицинина в семенах сои¹

Table 1. Expression of β -conglycinin genes in soybean seeds

Ген	14-й	21-й	25-й	28-й	35-й	42-й
Glyma10g39150 (<i>CG-1</i>)	9	217	47663	63048	199447	146831
Glyma20g28460 (<i>CG-4</i>)	0	0	4	8	342	1671
Glyma20g28650 (<i>CG-3</i>)	0	0	32	69	180	256

¹ Данные выражены в числе копий транскриптов по результатам РНК-секвенирования на 14-й, 21-й, 25-й, 28-й, 35-й и 42-й дни после цветения (SoyBase, 2024)

Определено пятнадцать генов субъединиц β -конглицинина, обозначенных *CG-1* – *CG-15*, большинство из которых недостаточно изучены. Продукты генов *CG-5* – *CG-15* неизвестны, поэтому их можно считать потенциальными псевдогенами. Ген *CG-1* кодирует α' -субъединицу, *CG-4* кодирует β -субъединицу, а гены *CG-2* и *CG-3* кодируют α -субъединицу, гомологичны, а продукты генов идентичны по составу аминокислот (Zhang et al., 2021, Yoshino et al., 2002). Эти гены являются функционально активными. Каждый из них состоит из шести экзонов, разделенных пятью интронами, подобно генам, кодирующим белки типа 7S глобулина других бобовых (Yoshino et al., 2001). Ген *CG-2* показывает низкую экспрессию по сравнению с *CG-3* (Yoshino et al., 2002). *CG-1* располагается на хромосоме 10, а *CG-3* и *CG-4* – на хромосоме 20. Для косвенного определения субъединиц β -конглицинина

перспективна оценка количества транскриптов интересных генов, что может быть использовано в селекции при создании сортов с заданным составом субъединиц этого белка. Такой подход использован при изучении запасных белков других растений, например пшеницы (Noma et al., 2016) и ячменя (Kaczmarczyk et al., 2012). Данных об использовании этого подхода для определения субъединиц β -конглицинина сои в литературе обнаружить не удалось.

Для изучения дифференциальной экспрессии любых генов, в том числе генов β -конглицининов, используют разные методы, такие как РНК-секвенирование, технология микрочипов (Jones, Vodkin, 2013), норзерн-блоттинг, количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Оценить уровень экспрессии генов *CG-1*, *CG-3* и *CG-4* в разных сортах сои можно с использованием метода

количественной ПЦР в реальном времени (Adams, 2020). ПЦР-анализ как метод молекулярной биологии широко используется в разных отраслях. Данный метод позволяет многократно увеличить количество заданных фрагментов ДНК с известной последовательностью в анализируемом образце. Для того, чтобы амплифицировать целевой участок ДНК, нужно правильно подобрать ограничивающие его праймеры, комплементарные противоположным концам цепей нужного фрагмента ДНК-мишени. Правильно разработанные праймеры играют ключевую роль в образовании и накоплении продуктов амплификации. Они должны отвечать ряду критериев. Размер праймеров должен быть, как правило, от 15 до 30 нуклеотидов, они должны быть специфичными для интересующего участка матрицы (Rodríguez et al., 2015). При недостаточной специфичности праймеров в процессе ПЦР будут образовываться нецелевые продукты амплификации. Праймеры не должны образовывать вторичные структуры – димеры и шпильки. Структура праймеров определяет оптимальную температуру отжига, связывания с матрицей, варьирующую от 40°C до 65°C (Degen et al., 2006), при этом достигается высокая специфичность ПЦР. При слишком высокой температуре праймеры плохо связываются с матрицей и образуется очень небольшое количество амплифицированной ДНК. Если температура отжига слишком низкая, может происходить неспецифический отжиг праймеров, приводящий к амплификации нежелательных фрагментов ДНК (Green, Sambrook, 2019).

Концентрация праймеров также влияет на эффективность и специфичность связывания с матрицей и обычно составляют от 0,1 до 0,5 мкМ. Если образуется слишком мало продукта амплификации, можно увеличить концентрацию праймеров, но при этом может снизиться специфичность (Green, Sambrook, 2019).

Несмотря на то, что оптимальная температура отжига определяется программой для разработки праймеров, от теоретически рассчитанной экспериментальная температура отжига может сильно отличаться. Таким образом, может потребоваться оптимизация (Rodríguez et al., 2015). Вышесказанное справедливо и для подбора условий для амплификации генов *CG-1*, *CG-3* и *CG-4* и, пре-

жде всего, температуры отжига праймеров, специфичных для этих генов, при которой не будет происходить накопление неспецифических продуктов ПЦР.

Материалы и методы

Для исследования использовали сорт сои селекции Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский институт сои» (ВНИИ сои) ‘Сентябринка’, так как это один из распространенных и наиболее продаваемых сортов. Семена измельчали до порошка, 0,05 г которого помещали в каждую из четырех пробирок. Из этого порошка выделяли РНК с помощью набора HiPure Plant RNA Mini Kit (Magen Biotechnology, Китай) для выделения РНК из растений на колонках с силикагелевой мембраной, согласно прилагаемой инструкции производителя. Каждый из четырех образцов РНК амплифицировали в 2-кратной повторности. Анализ проводили путем внесения РНК исследуемых образцов индивидуально в микропробирки по 0,2 мкл для ПЦР-диагностики в режиме реального времени. На основе этой выделенной РНК синтезировали комплементарную ДНК (кДНК) путём обратной транскрипции методом ПЦР с использованием набора реактивов ОТ М-MuLV-RH (Биолабмикс, Россия). Смесь для этой биохимической реакции состояла из матрицы РНК, олиго(dT)₁₆ праймера и воды, обработанной диэтилпирикарбонатом (ДЭПК). Эту смесь прогревали 2-3 мин при 70°C для денатурации вторичных структур и помещали пробирку в лёд. Далее к ней добавляли предварительно приготовленную смесь следующего состава: 4 мкл 5×реакционного буфера, 2 мкл 0,1 М дитиотреитола (ДТТ), 1 мкл 10 мМ смеси высокоочищенных дезоксирибонуклеотидов в водном растворе (dNTP), 1 мкл М-MuLV-RH ревертазы (100 ед./мкл). Инкубировали реакционную смесь 30 мин при 42°C для синтеза кДНК, которую далее использовали в качестве матрицы для ПЦР. Применяли пары праймеров для транскриптов генов *CG-1*, *CG-3* и *CG-4*, созданные *in silico* (Penzin, Timkin, 2023), последовательности которых приведены в таблице 2.

Таблица 2. Последовательности праймеров к транскриптам рассматриваемых генов

Table 2. Primer sequences for transcripts of the studied genes

Название гена	Последовательность прямого праймера (5'→ 3')	Последовательность обратного праймера (5'→ 3')
<i>CG-1</i>	GCTGGGAGTTGTTTTCTGGCA	TTGGTGTGGGCGTGGGTGTT
<i>CG-3</i>	TGCTGGGACTTGTTTTCTGGCT	ACTCCCTCTTGCTGCCTCTGCT
<i>CG-4</i>	ACTCCTACAACCTTACCCTGGCG	ACTCCCTCTTGCTGCCTCTGCT

ПЦР осуществляли с помощью амплификатора CFX96 (Real-time) (Bio-Rad Laboratories Inc., США) в объеме реакционной смеси 25 мкл, включавшей: 12,5 мкл готовой реакционной смеси БиоМастер HS-Taq ПЦР-Color (2×) (Биолабмикс, Россия); 1 мкл кДНК; по 1,25 мкл прямого и обратного праймеров; 9 мкл стерильной воды.

Амплификацию проводили при следующих температурных режимах: начальная денатурация – при 95°C в течение 5 мин, затем 30 циклов при температурно-временном режиме: [денатурация при 95°C – 10 с, градиентный отжиг праймера – 30 с, элонгация – при 72°C в течение 50 с]; финальная элонгация – при 72°C в течение 12 мин. Полученные ампликоны объемом 5 мкл наносили на 2% агарозный гель с добавлением бромистого этидия для электрофореза, на отдельную дорожку наносили маркер длин фрагментов ДНК 100+ bp DNA Ladder (Евроген, Россия) с шагом 100 пн. Электрофорез проводили в камере для горизонтального электрофореза SE-1 (Хеликон, Россия) в 0,5×TBE при напряжении 90–100 В и силе тока 50 мА в течение 1,5–2 ч. Для получения электрофо-

реграмм подложка помещалась в гель-документирующую систему GelDoc EZ (Bio-Rad Laboratories Inc., США).

Чтобы проверить эффективность праймеров, проводили ПЦР с образцами других 15 сортов сои: ‘Алпэтра’, ‘Евгения’, ‘Золушка’, ‘Лучистая’, ‘Статная’, ‘Грэй’, ‘Пепелина’, ‘Умка’, ‘Топаз’, ‘Золотница’, ‘Апис’, ‘ВНИ-ИС 18’, ‘Лидия’, ‘Персона’, ‘Невеста’. Также в качестве отрицательного контроля на агарозный гель наносили смесь, не содержащую кДНК.

Результаты и обсуждение

После приготовления смеси для амплификации проводили ПЦР-анализ при разных температурах отжига праймеров от 40°C до 65°C с кратностью интервала 1°C. Оптимальной считалась температура отжига, при которой наблюдались только хорошо различимые амплифицированные фрагменты в областях 430 пн, 286 пн и 595 пн и не было нецелевых фрагментов.

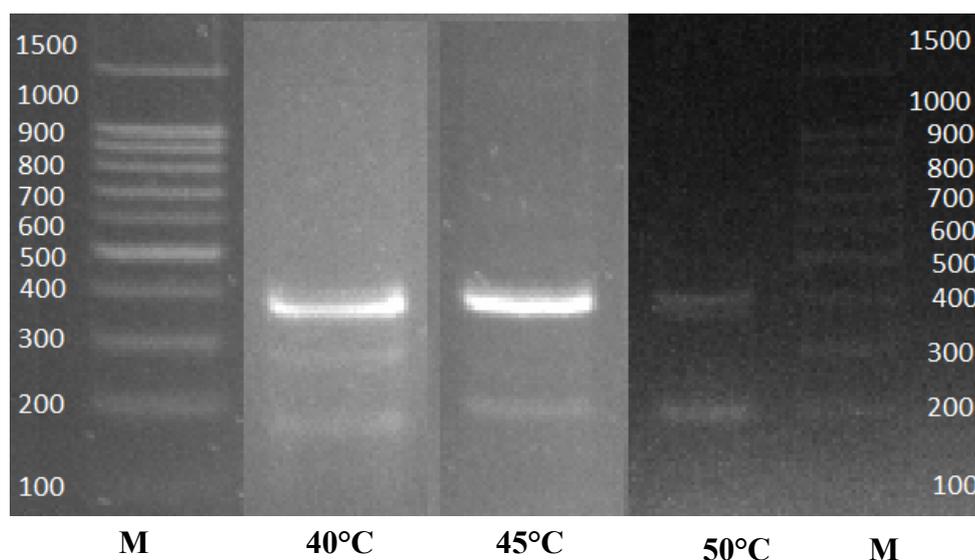


Рис. 1. Электрофоретический спектр ампликонов, полученных с праймерами к *CG-3* при температурах отжига 40°C, 45°C и 50°C
М – маркер размера фрагментов ДНК (100+пн)

Fig. 1. Electrophoretic spectrum of amplicons obtained with *CG-3* primers at annealing temperatures of 40°C, 45°C and 50°C
M – DNA fragment size marker – 100+bp DNA Ladder

Из рисунка 1 видно, что при 40°C, 45°C и 50°C помимо яркой специфической полосы в области 430 пн, наблюдаются также и дополнительные неспецифические фрагменты, что указывает на то, что температура отжи-

га слишком низкая. Поэтому ее повышали до получения только одного четкого и ярко выраженного фрагмента в нужной области.

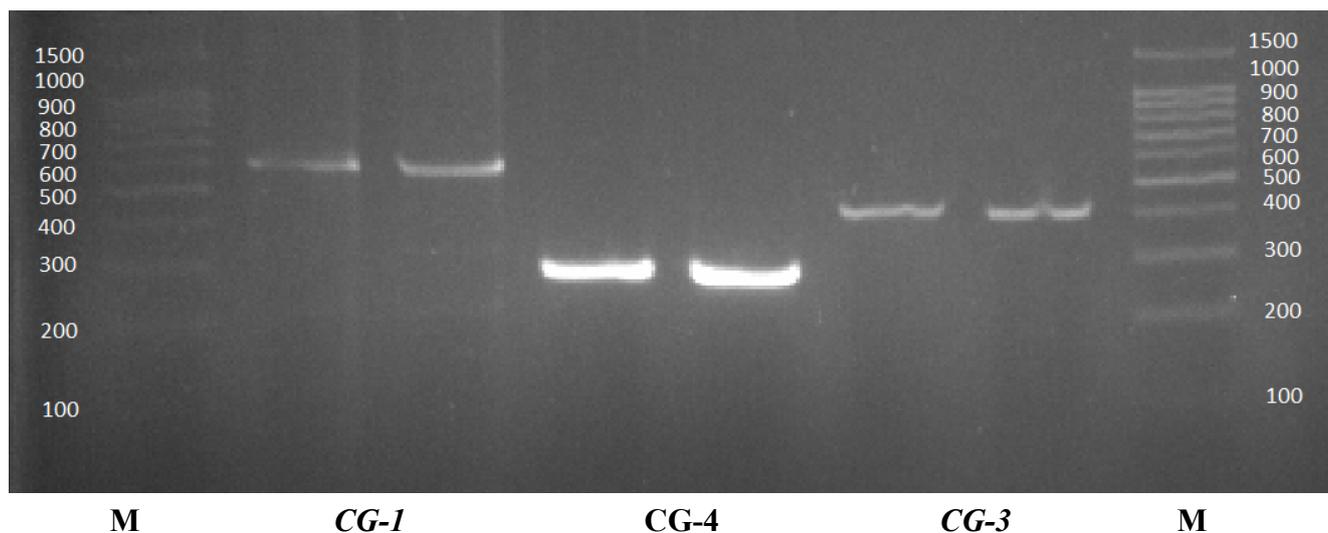


Рис. 2. Электрофоретический спектр продуктов амплификации кДНК сои
 М – маркер размера фрагментов ДНК (100+пн), *CG-1* – при 50°C, *CG-4* и *CG-3* – при 65°C

Fig. 2. Electrophoretic spectrum of soy cDNA amplification products
 M – DNA fragment size marker – 100+bp DNA Ladder, *CG-1* – at 50°C, *CG-4* and *CG-3* – at 65°C

При повышении температуры отжига до 65°C для праймеров, специфичных для генов *CG-3* и *CG-4*, и до 50°C для *CG-1*, эти дополнительные фракции исчезали и оставались только характерные фрагменты, что показано на рисунке 2. Длины амплифицированных фрагментов соответствуют ожидаемым для локусов *CG-3*, *CG-4* и *CG-1* (430 пн, 286 пн и 595 пн, соответственно). Таким

образом, подобранные экспериментальным путем температуры отжига можно использовать как оптимальные.

Пример электрофореграммы продуктов амплификации, полученных с праймерами к *CG-4* других сортов для проверки эффективности праймеров, показан на рисунке 3. Видны четкие полосы длиной 286 пн.

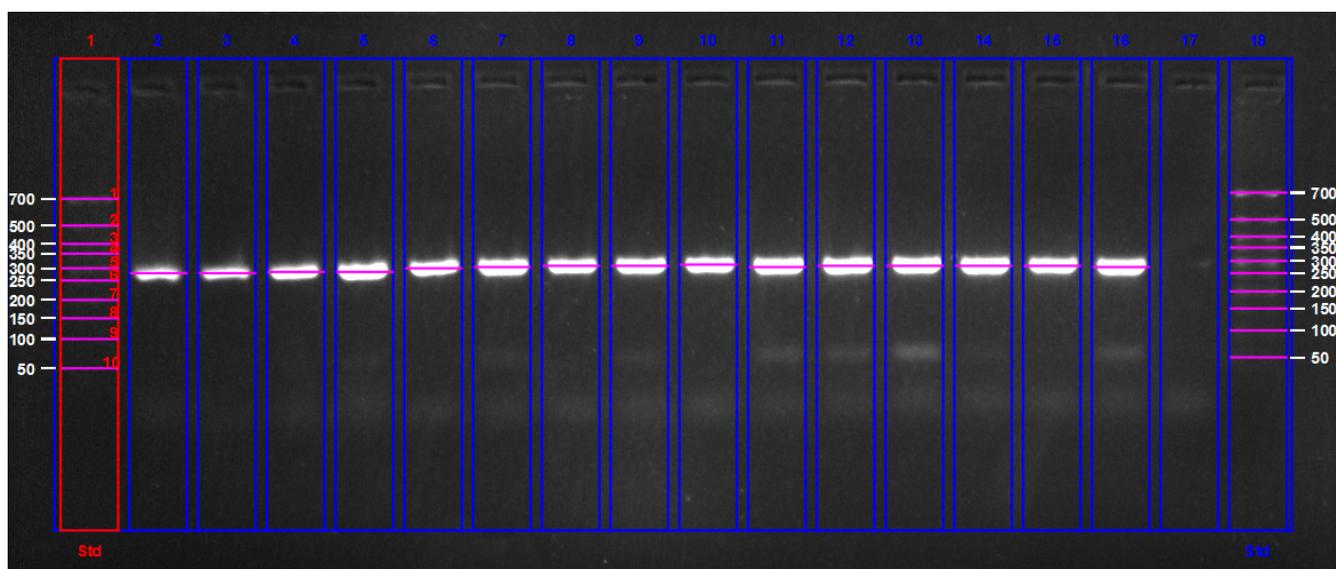


Рис. 3. Электрофоретический спектр продуктов ПЦР по матрице кДНК различных сортов сои (для *CG-4*)

1 и 18 – маркер размера фрагментов ДНК (50+пн); 2-16 исследуемые сорта (список представлен в разделе Материалы и методы), 17 – отрицательный контроль

Fig. 3. Electrophoretic spectrum of PCR products of cDNA of different soybean cultivars (for *CG-4*)
 1 and 18 – DNA fragment size marker – 50+ bp DNA Ladder; 2-16 studied cultivars, 17 – negative control

Заключение

В результате проделанной работы найдены оптимальные температуры отжига праймеров для генов β -конглицининов, при которых проявляются только фрагменты размером 430 пн, 286 пн и 595 пн. Температуры отжига пар праймеров для *CG-3* и *CG-4* составили 65°C, для *CG-1* – 50°C. При использовании данных температур в процессе постановки амплификации отжиг праймеров происходит в целевых районах кДНК. Это было отчетливо видно на электрофореграммах, где все ампликоны имели ожидаемый размер.

Таким образом для комплексного изучения качественного и количественного состава соевого белка создан молекулярно-генетический инструментарий позволяющий проводить дальнейший анализ дифференциальной экспрессии генов, отвечающих за синтез субъединиц β -конглицининов, с помощью количественной ПЦР в реальном времени. Анализ экспрессии подобных генов позволит типировать различные сорта сои, что в перспективе может служить новым направлением в селекционно-семеноводческом процессе, где будет оцениваться качественный состав белка, а не только его количество.

References/Литература

- Adams G. A beginner's guide to RT-PCR, qPCR and RT-qPCR. *The Biochemist*. 2020;42(3):48-53. DOI: 10.1042/BIO20200034
- Degen H.-J., Deufel A., Eisel D., Grünewald-Janho S., Keeseey J. (eds). PCR applications manual. Roche Molecular Biochemicals. 3rd ed. Mannheim, Germany: Roche Applied Science; 2006.
- Fukushima D. Soy proteins. In: G.O. Phillips, P.A. Williams (eds). *Handbook of Food Proteins*. Woodhead Publishing Limited; 2011. p.210-232. DOI: 10.1533/9780857093639.210
- Green M.R., Sambrook J. Polymerase Chain Reaction (PCR). *Cold Spring Harbor Protocols*. 2019;6:436-456. DOI: 10.1101/pdb.top095109
- Hooker J.C., Nissan N., Luckert D., Charette M., Zapata G., Lefebvre F., Mohr R.M., Daba K.A., Warkentin T.D., Hadinezhad M., Barlow B., Hou A., Golshani A., Cober E.R., Samanfar B. A multi-year, multi-cultivar approach to differential expression analysis of high- and low-protein soybean (*Glycine max*). *International journal of molecular sciences*. 2023;24(1):222. DOI: 10.3390/ijms24010222
- Jones S.I., Vodkin L.O. Using RNA-Seq to profile soybean seed development from fertilization to maturity. *PLoS One*. 2013;8(3):e59270. DOI: 10.1371/journal.pone.0059270
- Kaczmarczyk A., Bowra S., Elek Z., Vincze E. Quantitative RT-PCR based platform for rapid quantification of the transcripts of highly homologous multigene families and their members during grain development. *BMC Plant Biology*. 2012;12:184. DOI: 10.1186/1471-2229-12-184
- Noma S., Kawaura K., Hayakawa K., Abe C., Tsuge N., Ogihara Y. Comprehensive molecular characterization of the α/β -gliadin multigene family in hexaploid wheat. *Molecular Genetics and Genomics*. 2016;291(1):65-77. DOI: 10.1007/s00438-015-1086-7
- Peng L., Qian L., Wang M., Liu W., Song X., Cheng H., Yuan F., Zhao M. Comparative transcriptome analysis during seeds development between two soybean cultivars. *PeerJ*. 2021;9:e10772. DOI: 10.7717/peerj.10772
- Penzin A.A., Timkin P.D. In silico design of primers for profiling spare soy proteins. *Journal of Bioinformatics and Genomics*. 2023;3(21):1-5. DOI: 10.18454/jbg.2023.21.4
- Qin P., Wang T., Luo Y. A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2022;7(12):100265. DOI: 10.1016/j.jafr.2021.100265
- Rodríguez A., Rodríguez M., Córdoba J.J., Andrade M.J. Design of primers and probes for quantitative real-time PCR methods. In: *Methods in Molecular Biology*. 2015. Vol. 1275. p.31-56. DOI: 10.1007/978-1-4939-2365-6_3
- Siddique S., Mustafa S.E., Saggo A.A., Amam M. Physiological and nutraceutical properties of soybean (*Glycine max* L.). In: J.C. Jimenez-Lopez, J. Escudero-Feliu. *Soybean Crop – Physiological, Genetic and Nutraceutical Aspects*. 2024. DOI: 10.5772/intechopen.113864
- SoyBase. Integrating Genetics and Genomics to Advance Soybean Research Available from: <https://soybase.org/> [accessed Jun. 24, 2024]
- Sui X., Zhang T., Jiang L. Soy protein: molecular structure revisited and recent advances in processing technologies. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2021;12(1):119-147. DOI: 10.1146/annurev-food-062220-104405
- Tang C. Nanostructures of soy proteins for encapsulation of food bioactive ingredients. In: S.M. Jafari (ed.). *Biopolymer Nanostructures for Food Encapsulation Purposes*. Academic Press; 2019. Vol. 1. p.247-285. DOI: 10.1016/b978-0-12-815663-6.00010-0
- Van Den Berg L.A., Mes J.J., Mensink M., Wanders A.J. Protein quality of soy and the effect of processing: a quantitative review. *Frontiers in Nutrition. Sec. Nutrition and Food Science Technology*. 2022;9. DOI: 10.3389/fnut.2022.1004754
- Wang T. Qin G.-X., Sun Z.-W., Zhao Y. Advances of research on glycinin and β -conglycinin: A review of two major soybean allergenic proteins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2014;54(7):850-862. DOI: 10.1080/10408398.2011.613534
- Wiederstein M., Baumgartner S., Lauter K. Soybean (*Glycine max*) allergens – a review on an outstanding plant food with allergenic potential. *The American Chemical Society Food Science & Technology*. 2023;3(3):363-378. DOI: 10.1021/acsfodsctech.2c00380
- Yang A., Yu X., Zheng A., James A.T. Rebalance between 7S and 11S globulins in soybean seeds of differing protein content and IISA4. *Food Chemistry*. 2016;210:148-155. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.04.095
- Yoshino M., Kanazawa A., Tsutsumi K., Nakamura I., Shimamoto Y. Structure and characterization of the gene encoding α subunit of soybean β -conglycinin. *Genes & Genetic Systems*. 2001;2(76):99-105. DOI: 10.1266/ggs.76.99
- Yoshino M., Kanazawa A., Tsutsumi K., Nakamura I., Takahashi K., Shimamoto Y. Structural variation around the gene encoding the α subunit of soybean β -conglycinin and correlation with the expression of the α subunit. *Breeding Science*. 2002;52:285-292. DOI: 10.1270/jsbbs.52.285
- Zhang S., Du H., Ma Y., Li H., Kan G., Yu D. Linkage and association study discovered loci and candidate genes for glycinin and β -conglycinin in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2021;134(4):1201-1215. DOI: 10.1007/s00122-021-03766-6
- Zhao Y., Naren G., Qiang J., Qin G., Bao N., Farouk M.H. Identification of allergic epitopes of soybean β -conglycinin in different animal species. *Frontiers in veterinary science*. 2021;7:599546. DOI: 10.3389/fvets.2020.599546

Информация об авторах

Анастасия Андреевна Катрушенко, лаборант-исследователь, лаборатория биотехнологии, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Россия 675000, Амурская область, Благовещенск, Игнатьевское шоссе, 19, aak@vniisoi.ru, <https://orcid.org/0009-0008-3104-1696>

Павел Дмитриевич Тимкин, младший научный сотрудник, лаборатория биотехнологии, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Россия 675000, Амурская область, Благовещенск, Игнатьевское шоссе, 19, tpd@vniisoi.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6655-1049>

Андрей Андреевич Пензин, научный сотрудник, лаборатория биотехнологии, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Россия 675000, Амурская область, Благовещенск, Игнатьевское шоссе, 19, paa@vniisoi.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8578-9818>

Information about the authors

Anastasia A. Katrushenko, Research Assistant, Laboratory of Biotechnology, Federal Scientific Center «All-Russian Research Institute of Soybean», 19, Ignat'evskoe Highway, Blagoveshchensk, Amur Region, 675000 Russia, aak@vniisoi.ru, <https://orcid.org/0009-0008-3104-1696>

Pavel D. Timkin, Junior Researcher, Laboratory of Biotechnology, Federal Scientific Center «All-Russian Research Institute of Soybean», 19, Ignat'evskoe Highway, Blagoveshchensk, Amur Region, 675000 Russia, tpd@vniisoi.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6655-1049>

Andrey A. Penzin, Researcher, Laboratory of Biotechnology, Federal Scientific Center «All-Russian Research Institute of Soybean», 19, Ignat'evskoe Highway, Blagoveshchensk, Amur Region, 675000 Russia, paa@vniisoi.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8578-9818>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 22.04.2024; одобрена после рецензирования 07.08.2024; принята к публикации 13.09.2024.

The article was submitted on 22.04.2024; approved after reviewing on 07.08.2024; accepted for publication on 13.09.2024.