

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

PLANT PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY

DOI: 10.12731/2658-6649-2025-17-3-1208

EDN: ASXKXX

УДК 57.032



Научная статья

**АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ
ГЕНОВ ГЛИЦИНИНОВ И β -КОНГЛИЦИНИНОВ
В СЕМЕНАХ КУЛЬТУРНЫХ СОРТОВ СОИ
В РАЗНЫХ ПЕРИОДАХ ИХ СОЗРЕВАНИЯ***А.А. Пензин, П.Д. Тимкин, Д.Д. Котельников***Аннотация**

Обоснование. Соя – экономически важная культура, применяемая в различных отраслях промышленности, от питания людей до кормления животных. Создание новых сортов с повышенным содержанием белка или же с определённым их субъединичным составом, более подходящим для пищевых и кормовых целей, является актуальным направлением для исследований. В данном исследовании проведен анализ дифференциальной экспрессии генов глицининов и β -конглицининов в семенах различных сортов сои (*Glycine max* [L.] Merr) на разных стадиях созревания (R5-R8). Глицинины и β -конглицинины составляют значительную часть белка, содержащегося в соевых бобах, играют важную роль в прорастании семян и обеспечивают биотическую защиту. В исследования были проанализированы высокобелковые (Невеста и Статная), и низкобелковые (Гармония и Даурия) сорта.

Цель. Провести дифференциальный анализ экспрессии генов глицининов и β -конглицининов в различные фазы налива и созревания семян (R5-R8) сортов сои селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои с повышенным и пониженным содержанием белка.

Материалы и методы. Подбор праймеров для анализа генов глицининов (*Gy1-5* и *Gy7*) и β -конглицининов (*Cg1* и *Cg3-4*) проводился с использованием программного обеспечения, позволяющего добиться высокой специфичности

и отсутствия вторичных структур (димеров, шпилек), из РНК, выделенной из семян, была получена кДНК, используя необходимые наборы реагентов, амплификация фрагментов и их детекция проводилась на термоциклере CFX-96 в режиме реального времени.

Результаты. Были разработаны праймеры подходящие для анализа уровня экспрессии генов, кодирующих разные субъединицы глицининов и β -конглицининов. Получены транскриптомные профили исследуемых суюединиц.

Заключение. Результаты показали, что высокобелковые сорта демонстрируют повышенную экспрессию генов глицининов на ранних стадиях развития, тогда как низкобелковые отличаются повышенной экспрессией генов β -конглицининов. Это открывает перспективы для использования данных о экспрессии генов при селекции новых сортов сои, а также может помочь в оптимизации сроков сбора сои для производства продуктов питания, зависящих от определенного субъединичного состава белков.

Ключевые слова: глицинины; β -конглицинины; экспрессия генов; соя; белок

Для цитирования. Пэнзин, А. А., Тимкин, П. Д., & Котельников, Д. Д. (2025). Анализ дифференциальной экспрессии генов глицининов и β -конглицининов в семенах культурных сортов сои в разных периодах их созревания. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 17(3), 56-70. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2025-17-3-1208>

Original article

DIFFERENTIAL ANALYSIS OF GLYCININ AND β -CONGLYCININ GENE EXPRESSION IN SEEDS OF CULTIVATED SOYBEAN VARIETIES AT DIFFERENT PERIODS OF THEIR MATURATION

A.A. Penzin, P.D. Timkin, D.D. Kotelnikov

Abstract

Background. Soybeans are an economically important crop used in various industries, from human nutrition to animal feeding. The creation of new varieties with a high protein content or with a certain subunit composition more suitable for food and feed purposes is an urgent area for research. In this study, the differential expression of glycinin and β -conglycinin genes in seeds of various soybean varieties (*Glycine max* [L.] Merr) at different stages of maturation (R5-R8) was analyzed.

Glycinin's and β -conglycinins make up a significant part of the protein contained in soybeans, play an important role in seed germination and provide biotic protection. High-protein (Bride and Stately) and low-protein (Harmony and Dauria) varieties were analyzed in the study.

Purpose. To carry out a differential analysis of the expression of glycinin and β -conglycin genes in various phases of filling and maturation of seeds (R5-R8) of soybean varieties selected by the Federal State Budgetary Scientific Research Center of the Russian Research Institute of Soybeans with increased and decreased protein content.

Materials and methods. The selection of primers for the analysis of glycine genes (*Gyl-5* and *Gyl-7*) and β -conglycinins (*Cgl-1* and *Cgl-3-4*) was carried out using software that allows to achieve high specificity and the absence of secondary structures (dimers, hairpins), from RNA extracted from seeds, was cDNA was obtained using the necessary reagent kits, amplification of fragments and their detection were carried out on a CFX-96 thermo-cycler in real time.

Results. Primers have been developed suitable for analyzing the expression level of genes encoding different subunits of glycinins and β -conglycinins. Transcriptomic profiles of the studied subunits were obtained.

Conclusion. The results showed that high-protein varieties demonstrate increased expression of glycinin genes in the early stages of development, whereas low-protein varieties are characterized by increased expression of β -conglycinin genes. This opens up prospects for using data on gene expression in the selection of new soybean varieties, and may also be able to optimize the timing of soybean harvest for food production, depending on a certain subunit composition of proteins.

Keywords: glycinins; β -conglycinins; gene expression; soybean; protein

For citation. A.A. Penzin, P.D. Timkin, D.D. Kotelnikov (2025). Differential analysis of glycinin and β -conglycinin gene expression in seeds of cultivated soybean varieties at different periods of their maturation. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 17(3), 56-70. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2025-17-3-1208>

Введение

Соя – считается экономически важной сельскохозяйственной культурой, в виду своих питательных свойств. Одним из её главных сельскохозяйственных признаков является общее содержание белка, оценка качественного состава которого может выражаться в соотношении субъединиц глицининов (11S) к β -конглицининам (7S) [5; 15].

Изучение качественного состава белка, может позволить раскрыть потенциалов некоторых продуктов питания. Помимо этого, изучение соотно-

шения глицининов к β -конглицининам даст возможность в будущем лучше понимать процессы накопления белка, а также использовать этот параметр как сельскохозяйственный признак для выведения новых сортовобразцов [10; 12; 19].

Глицинины и β -конглицинины – основные запасные белки сои. Их содержание в семенах сои варьируется от 60 до 70 % от общего белка. В геноме сои локусы глицинина представлены множеством копий (*Gy1–Gy8*). В физиологии клеток сои, данные белки являются важным источником углерода и азота при проращивании семян. Также имеются свидетельства о том, что запасные белки обладают бактерицидными свойствами и по факту являются антимикробными пептидами. По всей видимости данное свойство глицининов и β -конглицининов позволяет иметь соевым бобам устойчивость к бактериям помимо запаса питательных веществ [2; 4; 20].

Все формы глицининов имеют схожее строение с минорными различиями. На данный момент неизвестно, есть ли какое-то отличие в механизмах транскрипции или в функциональном назначении в физиологии клеток. Однако несмотря на схожесть в первичной последовательности ДНК, имеются свидетельства о различных физико-химических свойствах, таких как желирование. Широко представленное разнообразие генов глицинина в геноме связывают с многократным умножением этого гена в ходе эволюции. Например, локусы *Gy6* и *Gy8* являются псевдогенами, то есть генами, которые по какой-либо причине утратили способность экспрессироваться. Также наблюдается тенденция к вырождению некоторых локусов, таких как *Gy7*. У этих локусов способность к экспрессии разнится в зависимости от сорта. Каждый ген глицинина содержит четыре экзона и три интрона, аналогично генам, кодирующим родственные белки у других бобовых. В случае β -конглицининов было обнаружено 15 локусов (*Cg1–Cg15*), при этом возможность к экспрессии преимущественно была выявлена у *Cg1*, *Cg3* и *Cg4*. Каждый из этих генов состоит из шести экзонов, разделенных пятью интронами, подобно генам, которые кодируют белки типа 7S глобулина у других бобовых растений [9; 16; 21].

Оценка сортовых линий по количественному соотношению глицининов и β -конглицининов позволит по-новому подойти к анализу качественного состава белка, создавая новые сортовобразцы с повышенным содержанием той или иной фракции в зависимости от потребностей сельхозпроизводителя. Исследования по профилированию образцов по соотношению 11S и 7S белка у сортов сои с высоким и низким содержанием белка, предпринимались методами РНК-секвенирования [6]. В академической среде уже

использовался подход к поиску сортовых линий, подходящих для конкретных задач пищевой промышленности, путем профилирования сортов сои по субъединичному составу. Так, например имеются данные о нахождении мутантных аллелей, которые приводили к отсутствию экспрессии *Gy1* и *Gy4*, семена сои с пониженным содержанием вышеописанных субъединиц, лучше подходят для приготовления тофу. Также удалось выяснить, что несмотря на снижение экспрессии двух субъединиц глицина, общее содержание белка не претерпело статистически значимых изменений [18].

Цель исследования – провести дифференциальный анализ экспрессии генов глицининов и β -конглицинов в различные фазы налива и созревания семян (R5-R8) сортов сои селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои с повышенным и пониженным содержанием белка.

Материалы и методы

На основании оценки объектов исследования по хозяйственно ценным и морфологическим признакам для последующего выделения тотальной РНК из семян сортов культурной сои, а также ее профилирования, были отобраны образцы семян со следующими характеристиками: высокобелковые сорта селекции ВНИИ сои – Невеста, Статная (39,8...40,7 % и 40,5...42,9% белка соответственно); низкобелковые сорта селекции ВНИИ сои – Гармония, Даурия (37,5...39,6 % и 37,3...40,3 % белка соответственно) [1].

Отбор семян сортов сои Невеста, Статная (высокобелковые сорта) и Гармония, Даурия (низкобелковые сорта) производился в разный период налива и созревания семян в фазах R5-R8. Отбор проводился с 20 по 90 сутки после начала цветения. Полученные семена различных фаз развития *G. max*, были заложены на хранение в морозильной камере при температуре – 80 °С, для дальнейших исследований.

Дизайн праймеров к мРНК интересующих белковых субъединиц *Gy1* (KRH67385), *Gy2* (KRH67383), *Gy3* (KRG95667), *Gy4* (KRH32185), *Gy5* (KRH19559), *Gy7* (KRG95666), *Cg-1*(KRH35498), *Cg-3*(KRG91330), *Cg-4* (KRG91303) осуществлялся с использованием плагина Primer3 программы Unipro UGENE [8, 17], с длиной ампликона от 90 до 150 п.н. и расчетной температуре отжига праймера - 60°С. Подобранные пары праймеров дополнительно отбирались по энергии связывания димеров (не менее -9 ккал/моль) и числу спаренных оснований (не более 4) при возможном образовании вторичных структур, гомо- и гетеродимеров, используя веб-инструментарий OligoAnalyzer от IDT [13].

По каждому периоду развития семян, был получен гомогенизат, который впоследствии использовался для экстракции нуклеиновых кислот. Выделение и очистка РНК из растений была выполнена с использованием набора HiPure Plant RNA Kit (Magen). Концентрация однопочечной РНК и уровень загрязнения были измерены на спектрофотометре EzDrop (BlueRay Biotech). Образцы считались чистыми при отношении длин волн 260/280 нм и 260/230 равным $2,0 \pm 0,2$. Использование спектрофотометрии было обусловлено необходимостью отбора чистых проб, так как загрязнитель (белковая и углеводная фракция) негативно влияет на проведение обратной транскрипции и ПЦР с кДНК.

Для проверки целостности выделенной РНК проводился электрофорез в 1%-агарозном геле при не денатурирующих условиях [14].

Обратную транскрипцию для получения кДНК проводили с использованием набора ОТ-М-MuLV-RH (Биолабмикс) согласно протоколу производителя с использованием Oligo dT праймеров, входящих в набор.

Валидация праймеров *in vitro* проводилась на сорте Невеста в стадии созревания семян R8 (90-ые сутки) с использованием набора БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (2×) (Биолабмикс), согласно инструкции в двухкратной повторности. Амплификация проводилась на термоциклере CFX96 (BioRad) Амплификацию при следующих температурных режимах: начальная денатурация – при 96 °C в течение 2 мин, затем 32 цикла при температурно-временном режиме: денатурация – при 94 °C – 30 сек, отжиг праймеров при 66°C (температура снижается в зависимости от количества пиков плавления с шагом в 2°C) – 40 сек, элонгация – при 70 °C в течение 1 мин; финальная элонгация – при 70 °C в течение 2 мин.

Для подбора оптимальных температур в стадии отжига, производилось последовательное снижение температур, начиная с 66°C. Анализировались результаты пиков плавления. В случае с детекцией одного пика плавления при заданной температуре, для каждой пары праймеров, то данная температура считалась оптимальной.

Количественная ПЦР, для анализа дифференциальной экспрессии генов глицининов и β -конглицинов проводилась с использованием протокола, описанного выше. Анализировались пики плавления и C_q , полученные после амплификации. В дальнейшем представленные результаты использовались для анализа дифференциальной экспрессии генов.

В качестве референса использовался конститутивный ген тубулина *tubB*, как один из наиболее подходящих для оценки дифференциальной экспрессии с учетом различных стадий развития. На данный момент подобные конститутивные гены апробированы только на корне, гипокотиле,

эпикотиле, семядоле, листе и верхушке побега. На семенах данный ген еще не был проверен [7, 9].

Статистический анализ относительной экспрессии генов по методу $2^{-\Delta\Delta CT}$ и нормализация показателей, для каждого образца проводилась с использованием программного пакета Microsoft Excel [11].

Для объективного сравнения результатов анализа уровня экспрессии исследуемых генов в разных сортах и периодах созревания семян была проведена z-нормализация [3].

Результаты

На начальном этапе были получены бобы сои на разных стадиях роста и развития. После чего, они были вскрыты для извлечения семян и последующего выделения РНК (Рис. 1).

Большая часть образцов была собрана в одинаковые сутки после начала цветения, за исключением сортов Статная и Гармония, у которых периоды R6 и R7 начинаются с 60-ых и 70-ых суток соответственно (Табл. 1).

Таблица 1.

Даты отбора бобов сои по фазам роста и развития сои

Сорт, форма	Дни после начала цветения, фаза роста и развития семян			
	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
сорта сои				
Невеста (ВНИИ сои)	20 день	70 день	80 день	90 день
Статная (ВНИИ сои)	20 день	60 день	70 день	90 день
Гармония (ВНИИ сои)	20 день	60 день	70 день	90 день
Даурия (ВНИИ сои)	20 день	60 день	80 день	90 день

В ходе подбора праймеров для каждого из транскриптов было сгенерировано от 2 до 3 пар олигонуклеотидов. Полученные последовательности успешно гибридизовались с матрицей на платформе BLAST, а также проходили проверку в плагине *ПЦР in silico*. То есть энергия Гиббса гомо и гетеродимеров составляла не мене -9 ккал/моль, а количество спаренных нуклеотидов не превышало 4 (Табл. 2).

В результате отбора из общего количества сгенерированных праймеров, было получено от 2 до 3 пар олигонуклеотидов удовлетворяющих описанным выше требованиям. Полученные последовательности успешно гибридизовались с матрицей на платформе BLAST, а также проходили проверку в плагине *ПЦР in silico*. То есть энергия Гиббса гомо и гетеро-

димеров составляла не мене -9 ккал/моль, а количество спаренных нуклеотидов не превышало 4 (Табл. 2).

Таблица 2.

Последовательности всех сгенерированных пар праймеров

Локус (номер пары прайме- ров)	ID транс- крипта	Прямой праймер	Обратный праймер	Экзон- ное распо- ложе- ние	Рас- чет- ные темпе- ратуры	Дли- на ам- пли- кона
'Gy1 (1)	KRH67385	GAAGAGGAT- GAGAAGCCA- CA	TGTCAGGTGAT- GAAGTCTGG	3 экзон	65,41	151
Gy1 (2)		AACAAAGAC- CCCAGGAAGAG	CAATGTTGTGGC- GAAGTCTC	3 экзон	65,27	159
Gy2 (1)	KRH67383	AGACCGTCAC- CAAAAGGTA	CAACAACAG- GAGTGTCTTCA	2 экзон	63,14	104
Gy2 (2)		GAGCATAAAC- CCGAGAGAAG	AAAGTAAC- CCCATGTAAGCA	1 экзон	61,1	129
Gy2 (3)		AGTGTGC- GTTCTTTTA- ATGT	TGCAGGAAATA- AGTAGTGAGC	1 экзон	57,47	120
Gy3 (1)	KRG95667	TCTCTC- CATTTGTCCTT- GAA	GCTGCTCTCT- GAAACTGAAA	1 экзон	61,67	109
Gy3 (2)		ACAACACAAA- CATTCTCTCCA	CTCTCT- GAAACTGAAAG- CGA	1 экзон	61,44	118
Gy4 (1)	KRH32185	GATAAACCTC- GTCCTAGT	GATCTTCATCTT- CATCTTC	3 экзон	60,85	85
Gy4 (2)		ACAAGCAT- GATGGTGT- GAGG	CGATTGAAAGG- TACAACGCC	4 экзон	61,55	142
Gy5 (1)	KRH19559	CGAACAA- CAAGAACCACG	TGAAGGGCGAG- CAATGTT	3 экзон	62,38	100
Gy5 (2)		AGAATATGAA- CAAACCTCC	TCTAGTCTGA- CATCCTCT	3 экзон	63,23	169
Gy5 (3)		TGGAAGAGGAT- GTCAGACTA	AGACTGTTGAG- GGTGCTAAT	3 экзон	63,79	135
Gy7 (1)	KRG95666	TGAAGGTGGG- GATAACAAAG	GGGTCTTGG- GTTTTCTTCT	3 экзон	62,46	138
Gy7 (2)		GGAGAAGT- GCTTGCGAAT	GACAATGAGGG- GATTTGGAG	3 экзон	64,38	123

¹ Полуужирным выделением отмечены пары праймеров, успешно прошедшие валидацию *in vitro*

<i>Cg-1</i> (1)	<i>KRH35498</i>	GGCAT- CAGTTTCT- GTCTCAT	TGTAG- GAGTCTTCTC- GCTA	1 экзон	62,7	101
<i>Cg-1</i> (2)		CACCAACCT- CATCAAAAGGA	TCTTTGTCTTG- CTCCTCATC	1 экзон	62,8	122
<i>Cg-3</i> (1)	<i>KRG91330</i>	TACTATGATGA- GAGCACGGT	TGGAGA- CACTTGTGT- GTTT	1 экзон	62,7	123
<i>Cg-3</i> (2)		CGAAAGCAA- GAGGAAGATGA	CCGAA- GAGAAAAGG- GTTCTT	1 экзон	62,2	104
<i>Cg-4</i> (1)	<i>KRG91303</i>	TCGAGGAGATA- AACAGGGTT	CTCAGTTGC- CGAATTGTTC	4 экзон	63,2	100
<i>Cg-4</i> (2)		GAACAAATTC- GGCAACTGAG	CAGGG- GTGATCT- CAAAGAAC	4 экзон	63,13	139

Концентрация выделенной РНК из бобов сои в период R5 составляла 35-50 нг/мкл, в периоды R5-R8 200-700 нг/мкл, чистота образцов находилась в желаемом диапазоне. Электрофорез тотальной РНК показал бэнды 28S-, 18S- и 5,8S-РНК, что свидетельствует о присутствии в смеси целостной нефрагментированной РНК (рис. 2).

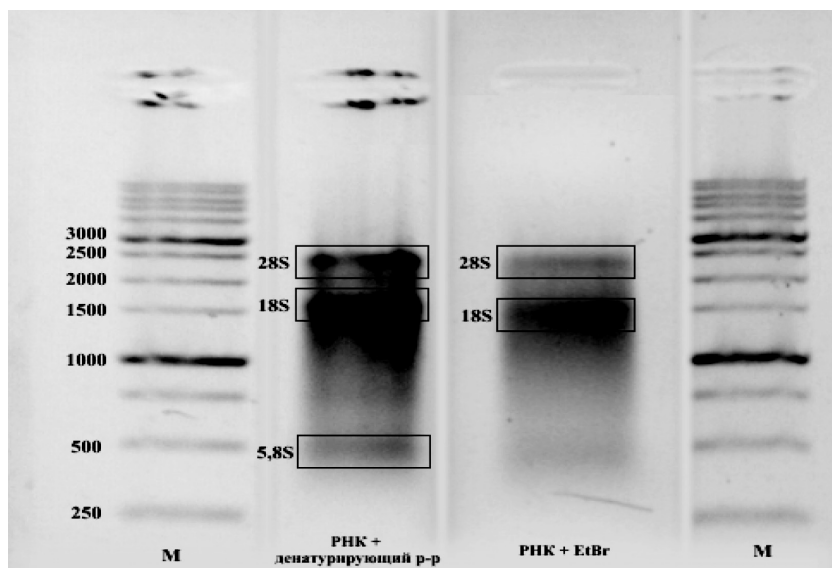


Рис. 2. РНК-электрофорез. М – маркер длин 1kb (Евроген)

Используя полученную кДНК из выделенной РНК, удалось добиться амплификации с использованием некоторых сгенерированных праймеров. Так для каждого локуса только одна пара праймеров гибридизовалась с целевым фрагментом при температуре при 64°C. Те пары, что не продемонстрировали результат требуют дальнейшей коррекции температурного оптимума и возможно подойдут для других исследований, где будут требоваться другие условия ПЦР-реакции.

Оценка кривых плавления ПЦР-продуктов, удавшихся олигонуклеотидов, показала единичные пики флуоресценции в образцах на всех этапах созревания семени, что свидетельствует, во-первых, об отсутствии нецелевого эффекта праймеров, а во-вторых, об отсутствии неспецифической амплификации димеров праймеров (рис. 3).

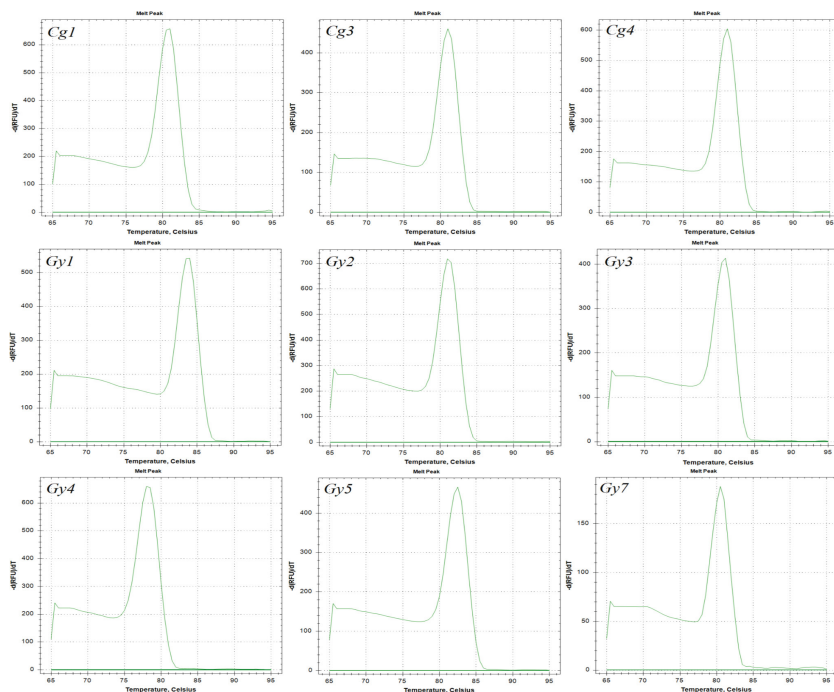


Рис. 3. Кривые плавления праймеров

Убедившись в специфичности работы праймеров - следующим шагом эксперимента была оценка уровня экспрессии генов глицининов и

β -конглицининов, для этого была проведена ПЦР РВ с использованием отобранных праймеров.

В результате Z-нормализации данных, полученных при анализе относительной экспрессии генов методом $2^{-\Delta\Delta CT}$ были получены гистограммы для сравнительного анализа различий уровней экспрессии генов, кодирующих глицинины и β -конглицинины как по разным фазам созревания семян, так и по сортам (Рис. 4).

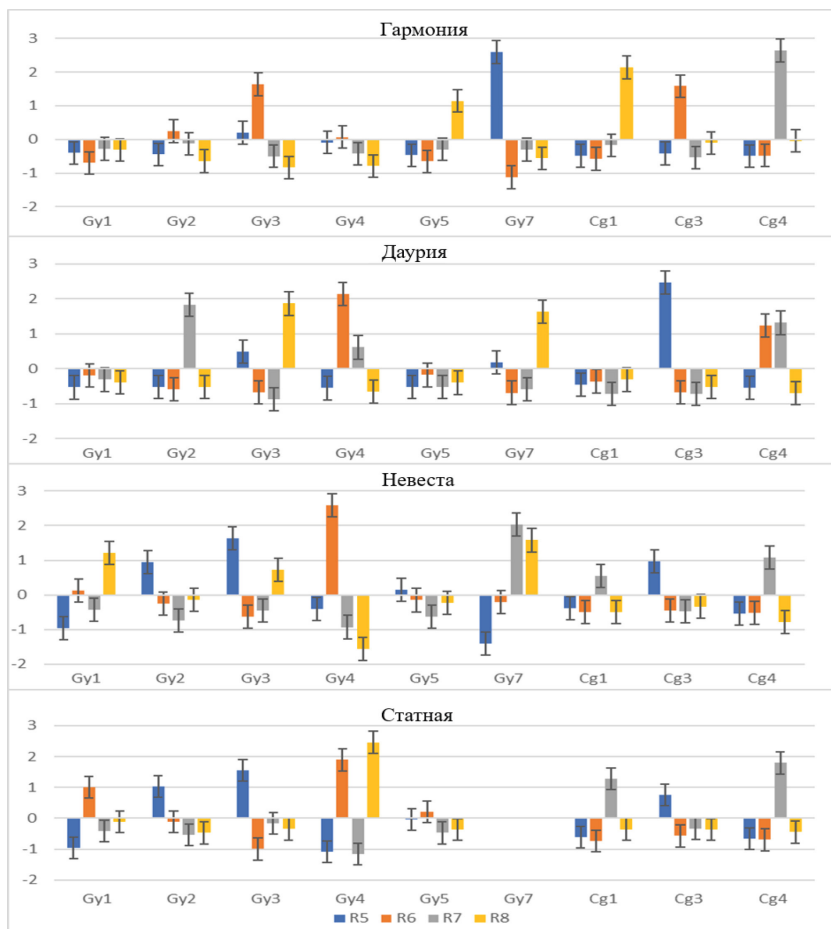


Рис. 4. Z-нормализованный уровень экспрессии глицининов и β -конглицининов
Примечание: R5-8 – фазы созревания семян

Анализ гистограмм показал, что высокобелковые сорта сои, такие как Невеста и Статная, демонстрируют повышенный уровень экспрессии генов, кодирующих глицинины, по сравнению с низкобелковыми сортами, такими как Даурия и Гармония. Это особенно ярко выражено для гена *Gy4*, который проявляет высокую активность в фазах R6 и R8 у сорта Статная и в фазе R6 у сорта Невеста, а также для гена *Gy1*, что проявлял себя только в этих сортах. Кроме того, высокобелковые сорта характеризуются повышенной экспрессией генов *Gy2* и *Gy3* на ранних стадиях развития, тогда как в низкобелковых сортах эти гены активируются на более поздних стадиях. Сорта Гармония и Даурия отличаются от высокобелковых сортов повышенной экспрессией генов, кодирующих β -конглицинины, на различных стадиях развития.

Заключение

Проведенный анализ дифференциальной экспрессии генов позволил выявить закономерности накопления глицининов и β -конглицининов в образцах низкобелковых и высокобелковых сортов сои. Экспрессия генов *Gy1-Gy7* у высокобелковых сортов (Невеста и Статная) превосходила экспрессию *Cg1-Cg4*, в то время как в низкобелковых сортах (Даурия и Гармония) наблюдалась противоположная картина. Сравнивая эти сорта между собой, можно заметить, что экспрессия генов кодирующих глицинины в высокобелковых сортах выше, чем в низкобелковых и наоборот в случае с генами кодирующими β -конглицинины. Эти данные способны как помочь при подборе родительских пар на основе РНК-профилирования, так и при выборе подходящих сроков сбора сои для производства различных продуктов питания, для производства которых более предпочтителен определённый субъединичный состав.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена с использованием семян, предоставленных лабораторией селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои.

Информация о спонсорстве. Исследование выполнено в рамках темы научно-исследовательской работы № 082-3-2023-0007.

Список литературы / References

1. Каталог сортов сои / Фокина, Е. М., Беляева, Г. Н., Синеговский, М. О. [и др.]. (2021). Благовещенск: ООО «ИПК «ОДЕОН». 69 с. (*Catalog of soybean varieties* / Fokina, E. M., Belyaeva, G. N., Sinegovsky, M. O. et al.

- (2021). Blagoveshchensk: LLC “IPC “ODEON”, 69 p.) ISBN: 978-5-6040714-5-8 EDN: <https://elibrary.ru/qosjcx>
2. Badley, R. A., Atkinson, D., Hauser, H., Oldani, D., Green, J. P., & Stubb, J. M. (1975). The structure, physical and chemical properties of the soy bean protein glycinin. *Biochim Biophys Acta*, 412(2), 214-228. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(75\)90036-7](https://doi.org/10.1016/0005-2795(75)90036-7)
 3. Cheadle, C., Vawter, M. P., Freed, W. J., & Becker, K. G. (2003). Analysis of microarray data using Z score transformation. *J Mol Diagn*, 5(2), 73-81. [https://doi.org/10.1016/S1525-1578\(10\)60455-2](https://doi.org/10.1016/S1525-1578(10)60455-2)
 4. Freitas, C. S., Vericimo, M. A., Silva, M. L., da Costa, G. C. V., Pereira, P. R., Paschoalin, V. M. F., & Del Aguila, E. M. (2019). Encrypted antimicrobial and antitumoral peptides recovered from a protein-rich soybean (*Glycine max*) by-product. *Journal of Functional Foods*, 54, 187-198. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.01.024>
 5. Guo, B., Sun, L., Jiang, S., et al. (2022). Soybean genetic resources contributing to sustainable protein production. *Theor Appl Genet*, 135, 4095-4121. <https://doi.org/10.1007/s00122-022-04222-9> EDN: <https://elibrary.ru/fzjutt>
 6. Hooker, J. C., Nissan, N., Luckert, D., Charette, M., Zapata, G., Lefebvre, F., Mohr, R. M., Daba, K. A., Warkentin, T. D., Hadinezhad, M., et al. (2023). A Multi-Year, Multi-Cultivar Approach to Differential Expression Analysis of High- and Low-Protein Soybean (*Glycine max*). *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 222. <https://doi.org/10.3390/ijms24010222> EDN: <https://elibrary.ru/fqyarx>
 7. Hu, R., Fan, C., Li, H., et al. (2009). Evaluation of putative reference genes for gene expression normalization in soybean by quantitative real-time RT-PCR. *BMC Molecular Biol*, 10, 93. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-10-93> EDN: <https://elibrary.ru/ybghyr>
 8. Koressaar, T., Lepamets, M., Kaplinski, L., Raime, K., Andreson, R., & Remm, M. (2018). Primer3_masker: integrating masking of template sequence with primer design software. *Bioinformatics*, 34(11), 1937-1938. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty036>
 9. Li, C., & Zhang, Y. M. (2011). Molecular evolution of glycinin and β -conglycinin gene families in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Heredity*, 106, 633-641. <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.97>
 10. Mulalapele, L. T., & Xi, J. (2021). Detection and inactivation of allergens in soybeans: A brief review of recent research advances. *Grain & Oil Science and Technology*, 4(4), 191-200. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2021.11.001> EDN: <https://elibrary.ru/xsoawf>
 11. Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻($\Delta\Delta C_T$) Method. *Methods*, 25(4), 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

12. Ma, Y., Kan, G., Zhang, X., Wang, Y., Zhang, W., Du, H., & Yu, D. (2016). Quantitative Trait Loci (QTL) Mapping for Glycinin and β -Conglycinin Contents in Soybean (*Glycine max* L. Merr.). *J Agric Food Chem*, 64(17), 3473-3483. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00167>
13. Owczarzy, R., Tataurov, A. V., Wu, Y., Manthey, J. A., McQuisten, K. A., Almabrazi, H. G., Pedersen, K. F., Lin, Y., Garretson, J., McEntaggart, N. O., Sailor, C. A., Dawson, R. B., & Peek, A. S. (2008). IDT SciTools: a suite for analysis and design of nucleic acid oligomers. *Nucleic Acids Res*, 36(Web Server issue), W163-W169. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn198>
14. Rio, D. C., Ares, M., Hannon, G. J., & Nilsen, T. W. (2010). Nondenaturing Agarose Gel Electrophoresis of RNA. *Cold Spring Harbor protocols*, pdb.prot5445. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5445>
15. Shea, Z., Singer, W., & Zhang, B. (2020). Soybean Production, Versatility, and Improvement. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91778>
16. Sui, X., Zhang, T., & Jiang, L. (2021). Soy protein: molecular structure revisited and recent advances in processing technologies. *Annual Review of Food Science and Technology*, 12(1), 119-147. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-062220-104405> EDN: <https://elibrary.ru/dnsbtu>
17. Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., & the UGENE team. (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28, 1166-1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091> EDN: <https://elibrary.ru/pdnjnv>
18. Kim W, Kim S, Krishnan HB. Seed-Specific Silencing of Abundantly Expressed Soybean Bowman-Birk Protease Inhibitor Genes by RNAi Lowers Trypsin and Chymotrypsin Inhibitor Activities and Enhances Protein Digestibility. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025; 26(14):6943. <https://doi.org/10.3390/ijms26146943>
19. Wang, T., Qin, G.-X., Sun, Z.-W., & Zhao, Y. (2014). Advances of Research on Glycinin and β -Conglycinin: A Review of Two Major Soybean Allergenic Proteins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 850-862. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.613534>
20. Xiang, N., Lyu, Y., Zhu, X., Bhunia, A. K., & Narsimhan, G. (2016). Methodology for identification of pore forming antimicrobial peptides from soy protein subunits β -conglycinin and glycinin. *Peptides*, 85, 27-40. PMID: 27612614. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2016.09.004> EDN: <https://elibrary.ru/xzcg>
21. Zhang, S., Du, H., Ma, Y., Li, H., Kan, G., & Yu, D. (2021). Linkage and association study discovered loci and candidate genes for glycinin and β -conglycinin in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Theoretical and Applied Genetics*, 134(4), 1201-1215. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03766-6> EDN: <https://elibrary.ru/xkuijx>

ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ

Пензин Андрей Андреевич, научный сотрудник

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
федеральный научный центр «Всероссийский научно-иссле-
довательский институт сои»*

*Игнатьевское ш., 19, г. Благовещенск, 675028, Российская Федерация
penzin9898@mail.ru*

Тимкин Павел Дмитриевич, младший научный сотрудник

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
федеральный научный центр «Всероссийский научно-иссле-
довательский институт сои»*

*Игнатьевское ш., 19, г. Благовещенск, 675028, Российская Федерация
tpd@vniisoi.ru*

Котельников Данил Дмитриевич, лаборант

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
федеральный научный центр «Всероссийский научно-иссле-
довательский институт сои»*

*Игнатьевское ш., 19, г. Благовещенск, 675028, Российская Федерация
danil.kotelnikov.02@gmail.com*

DATA ABOUT THE AUTHORS

Andrey A. Penzin, Researcher

*All-Russian Scientific Research Institute of Soybean
19, Ignatievskoe hw., Blagoveshchensk, 675028, Russian Federation
penzin9898@mail.ru*

Pavel D. Timkin, Junior Researcher

*All-Russian Scientific Research Institute of Soybean
19, Ignatievskoe hw., Blagoveshchensk, 675028, Russian Federation
tpd@vniisoi.ru*

Daniil D. Kotelnikov, Laboratory Assistant

*All-Russian Scientific Research Institute of Soybean
19, Ignatievskoe hw., Blagoveshchensk, 675028, Russian Federation
danil.kotelnikov.02@gmail.com*

Поступила 08.11.2024

После рецензирования 10.12.2024

Принята 19.12.2024

Received 08.11.2024

Revised 10.12.2024

Accepted 19.12.2024