**Изоферменттер генетикалық маркер ретінде**

Соңғы кездері селекцияның негізгі құралдарының бірі болып табылатын генетикалық маркерлер организмнің тұқым қуалаушылық конституциясын бағалауда аса маңызды роль атқарады. Генетикалық маркерлер деп геномдағы локализациясы белгілі генді айтады. Ол генді анықтай отырып басқа гендерді де анықтауға болады. Алайда зерттеушілер ген-маркердің өзімен емес, оның айқын байқалатын сандық белгі ретінде көрінетін фенотиптік көрінісімен жұмыс жасайды. Бұндай белгі сәйкес генді  және сонымен тіркескен басқа да гендерді анықтау факторы ретінде пайдаланыла алады.

Белокты бөліп алу мен идентификациялаудың (Электрофорез, изоэлектрофокустау, иммуноэлектрофорез т.б) қазіргі замандық әдістері молекулалардың әр түрлігі жайлы нақты мәліметтер алуа мүмкіндік береді. Ол арқылы генотиптердің әр түрлігі жайлы да мәліметтер алуға болады, себебі теориялық жағынан алғанда кез келген полипептид өзін кодтайтын геннің маркері ретінде қызмет атқара алады.

Белок молекуласын зерттеудегі көптеген жетістіктерге агар, крахмал және полиакриламид гельдерінде электрофорездеу арқылы жетті. Белок молекуласының  бөлінуі «молекулалық торда» тұрақты тоқ әсерінен жүреді. Бұнда «молекулалық тор» қызметін гель атқарады.  Бұл кезде белоктар бір полюстен екіншісіне әр түрлі жылдамдықпен жылжиды. Олардың жылжу жылдамдығы олардың молекулалық зарядтары және көлемі арқылы анықталды.  Белоктардың бөлінуі жүрген соң оларды фиксациялау және бояу жүргізіледі. Нәтижесінде зерттеліп жатқан белоктың компоненттік құрамы жайлы мәлімет беретін жолақтар спектрі түзіледі. Белоктардың суббөлікті құрамы жайлы мәлімет алу үшін электрофорезді денатурацаялйтын (мочевина, натри додесульфаты)  жағдайда жүргізеді.  Белоктың айтарлықтай күрделі қосылыстары жайлы нақты мәліметтер алу үшін оларды  екіөлшемді электрофорездеу  жүргізеді.

Электрофорез үшін көбіне гельмен толтырылған түтіктерді немесе белгілі қалындыққа ие гель пластинкаларын пайдаланады. Белоктарды олардың спектрдегі орны арқылы идентификациялайды және оларды қозғалғыштық коэффицент (Rf) көрсеткіші немесе  реттік нөмірі арқылы белгілейді. Электрофорез сонымен қатар белоктың молекулалық массасы жайлы да мәліметтер алуға мүмкіндік береді. Ол үшін зерттеліп жатқан белоктың қозғалғыштығын белок-эталонның қозғалғыштығымен салыстыру жүргізеді.

Белоктардың иммунохимиялық анализі үшін антиген-антидене спецификалық әрекеттесетін реакцияны пайдаланады. Иммунохимиялық әдіс әр түрлі белоктардың биологиялық гомологиясын анықтауға мүмкіндік береді.

Негізінен электрофорез арқылы көптеген белоктар, әсіресе ферменттер көптеген формада кездесетіндігі анықталған. Соңғысы изоферменттер немесе изозим (Hounter, Markert, 1957)  деген атауға ие болды. Сонымен қатар басқа да белоктардың, соның ішінде дәннің қорлық белоктарының (Jones, et.al., 1959) көптеген варианттары кездесетіндігі анықталды.

Полиморфизм термині алғаш рет 1940-жылы Форт морфологиялық өзгергіштікті белгілеу үшін қолданған. Оның анықтамасы бойынша полиморфизм – бір уақытта, бір аймақта бір түрдің екі немесе одан да көп формасының бар болуы онда болып өткен мутациялық өзгеруінің нәтижесі емес, бар аллельдер бойынша гетерозиготалықтың бар болуының нәтижесі болып табылады. Ал қазіргі кезде полиморфизм термині бір геннің аллельдің күйіне байланысты болатын индивидуалдық өзгергіштікті белгілейді.

Изоферменттер деп бір түрдің дарабастарынан бөлініп алынған  ферменттердің генетикалық детерминацияланған молекулалық көп формасын атайды.  Олар бірдей субстратты спецификалыққа ие, бірақ бір-бірінен айырмашылығы өздерінің бірінші реттік құрылымы  және физико-химиялық қасиеттері бойынша болады:  электр өрісіндегі қозғалғыштығы, субстрат мен ингибитор молекулаларына туыстығы және температураға төзімділігі бойынша.

Алайда пайда болу механизміне қарамастан дәннің изоферменттік спектрі өсімдіктердің белгілі бір түр, сорт және линиялары үшін аса спецификалы болып келеді.

Изоферменттерді молекулалық маркерлер ретінде пайдалану ыңғайлылығы  себептері келесілер:

1. Белоктар – гендік жүйенің алғашқы өнімдері және геннен белокқа дейінгі жол, геннен морфологиялық, физиологиялық белгіге дейінгі жолдан әлде қайда қысқа. Сондықтан белоктық белгі фенотиптік өзгергіштікке өз ұшырайды.
2. Белок гендік жүйенің алғашқы өнімі болып табылатындықтан белок өзін кодтайтын геннің немесе гендік жүйенің (хромосома, геном) маркері ретінде пайдаланыла алады. Бұндай белок-маркерлердің жиынтығы геномның құрылымын және бүтін генотиптің спецификалығын  көрсете алады.
3. Изоферменттерді көптеген гендер кодтайды, ал ол болса геномның барлық гомеологиялық хромосомасында орналасқан болуы мүмкін.
4. Изоферменттер анализі үшін өсімдіктің аз ғана материалы қажет және де бір уақытта көптеген үлгіні анализдеуге болады.

Электрофорез әдісін пайдалану біріншіден белоктарды сәйкес көптеген гендер кластерлерімен кодталатын көп компонентті жүйе ретінде ажыратуға, екіншіден геннің аллелизмін анықтауға және әртүрлі популяциядағы геннің аллельдік құрамын бағалауға мүмкіндік береді.

Бірқатар ферменттердің изоферменттік спектрі температура, фотопериод, инфекция және өсімдіктің қоректену жағдайы сияқты көптеген  факторлар әсерінен өзгергіштікке ұшырайды. Сонымен қатар, көптеген ферменттер энзимограммасы органдық, ұлпалық және субклеткалық спецификалыққа ие. Сондықтан әдісті стандарттау қажет, ең алдымен фермент бөлініп алынатын, фермент көзін таңдау барысында оны ескеру қажет. Мұндай мақсатта ең қолайлы объект жетілген дән болып табылады. Тыныштық жағдайдаға өткен  дәнде ферментативтік процесстер жалғасып жатады. Оған негізінен оксидоредуктазалар мен гидролазалар қатысады. Бұл екі класс ферменттерінің негізгі қызметі – дәннің алғашқы өсу кезеңін қамтамасыз ету.

.