

АНАЛИЗ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ АВЕНИНОВ СОРТОВ ОВСА ПОСЕВНОГО (*AVENA SATIVA* L.), ВОЗДЕЛЫВАЕМЫХ В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

А.В. ЛЮБИМОВА, Д.И. ЕРЁМИН, М.Н. ФОМИНА

(Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр
Сибирского отделения Российской академии наук»)

Целиакия – это аутоиммунное заболевание, возникающее у генетически восприимчивых людей после употребления в пищу проламинов злаков. Единственное средство лечения целиакии – пожизненная безглютеновая диета, но ее соблюдение также может негативно сказаться на состоянии здоровья. Хорошим решением может быть включение в такую диету продуктов из овса. Однако разные сорта овса отличаются по своей иммуногенности, и важнейшее значение имеет изучение иммунореактивности их проламинов для выявления безглютеновых генотипов. Целью исследований стала оценка иммуногенности сортов и перспективных селекционных линий овса посевного, возделываемых на территории Тюменской области в период с 1929 по 2023 гг. для использования в селекции безглютеновых сортов. Определение количества глютена в зерне осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем, основанных на применении антител R5 и G12. В ходе исследований было выявлено, что ни один из образцов не проявил иммунореактивности по отношению к антителу R5. При использовании антитела G12 установлено, что все проанализированные сорта относятся к безглютеновым: содержание глютена в них варьирует от 2,14 (Нидар) до 9,55 (ТМ 16–58–4) мг/кг. Особого внимания заслуживает сорт Орёл, содержание глютена в зерне которого – менее 2 мг/кг. Этот генотип является перспективным для включения в селекционный процесс на получение безглютеновых сортов. Среднее содержание глютена в образцах местной селекции составляет $5,23 \pm 0,678$ мг/кг и достоверно превышает этот показатель у иностранных и инорайонных сортов, что связано с введением в скрещивания более аллергенных сортов. Иммуногенность сортов связана с конкретными аллелями авенин-кодирующих локусов. Аллели A11, B11 и C2 могут быть перспективны в качестве маркеров безглютеновых сортов. Для успешного развития селекции безглютеновых сортов овса необходимы анализ аллельного состояния авенин-кодирующих локусов исходных генотипов и определение содержания в них глютена с антителом G12.

Ключевые слова: овес (*Avena sativa* L.), целиакия, безглютеновая диета, глютен, авенин, иммуноферментный анализ, антитела R5 и G12, авенин-кодирующий locus.

Введение

Целиакия – это наследственное пожизненное аутоиммунное заболевание, характеризующееся воспалительной реакцией на глютен у генетически восприимчивых людей. Ею страдает около 1% всего населения планеты. Глютенom называют смесь полипептидов, содержащихся в зерне таких злаков, как пшеница, ячмень, рожь и овес. Глютен пшеницы состоит из двух фракций: растворимых в спирте глиадинов и растворимых в слабых растворах щелочей глютенинов. Аналогичные спирторастворимые белки присутствуют в зерне ячменя, ржи и овса: гордеины, секалины и авенины соответственно [8, 19]. Наиболее иммуногенными белками являются

глиадины, так как в их состав входит большое количество пролина и глутамина – основных аминокислот, ответственных за запуск иммунного ответа при целиакии.

Известно, что аминокислотный состав проламинов можно соотнести с ботанической генеалогией злаковых. Состав спирторастворимых белков пшеницы схож с таковым у других злаков, относящихся к трибе *Triticeae* – ячменя, ржи. Овес же относится к трибе *Poeae*, подтрибе *Aveninae*. Авенины овса филогенетически более далеки от проламинов пшеницы, ржи и ячменя и при том же уровне глутамина содержат значительно меньше пролина. В результате эти белки по своему составу занимают промежуточное положение между проламинами злаков из трибы *Triticeae* и другими злаками и больше напоминают белки риса и двудольных растений [7, 11, 17].

Единственное эффективное средство лечения людей с целиакией – это строгая пожизненная безглютеновая диета, при которой пшеница, ячмень, рожь и их производные должны быть заменены продуктами, полученными из зерновых культур, не содержащих глютен. Однако на такой диете трудно получить необходимое для организма количество клетчатки, железа и кальция.

У людей, соблюдающих безглютеновую диету, возникают проблемы в состоянии здоровья, связанные с составом и питательными качествами безглютеновых продуктов [4]. Состояние больного целиакией может улучшить включение в его диету продуктов из овса, поскольку это важный источник белков, липидов, витаминов, минералов и клетчатки. Большинство людей, страдающих целиакией, переносят овес без каких-либо признаков воспаления кишечника [20, 23]. При этом вопрос его иммуногенности по сей день остается открытым, так как проводимые в мире исследования дают противоречивые сведения в отношении токсичности авенинов.

Утверждается, что чистый овес безопасен для большинства людей, страдающих целиакией [6, 22]. Однако в ряде исследований показано, что иммуногенность овса варьирует в зависимости от потребляемого сорта и связана с наличием в токсических проламинах специфических аминокислотных последовательностей, проявляющих различную иммунореактивность [3, 13, 26]. На сегодняшний день описано 25 генов, расположенных на трех хромосомах (1D, 3D и 7A) и контролирующих синтез авенинов [14], но это достаточно полиморфные белки, и описание генов, контролирующих их, остается неполным. Это значительно затрудняет оценку генотипов овса на наличие в них генов токсических авенинов.

Существует несколько качественных и количественных аналитических методов для обнаружения и количественного определения глютена и глютенopodobных белков. Наиболее популярным в настоящее время является иммуноферментный анализ: enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). В большинстве коммерческих ELISA для количественного определения глютена используются моноклональные антитела – такие, как Скерритт, R5 и G12 [27]. Комбинация иммуноферментного анализа с антителом R5 и запатентованного коктейля носит название «метод Мендеса» и является эталонным методом, рекомендуемым Комиссией «Кодекс Алиментариус» (свод пищевых международных стандартов, принятых Международной комиссией ФАО/ВОЗ) для определения количества глютена и глютенopodobных белков в пищевых продуктах, полуфабрикатах и зерне, в том числе в зерне овса. При этом проба считается безглютеновой, если концентрация глютена в ней составляет менее 20 мг/кг. К продуктам с очень низким содержанием глютена относят те, в которых содержание этого вещества находится в пределах от 20 до 100 мг/кг [5, 16].

Таким образом, наблюдается разнообразие в потенциальной иммуногенности овса, зависящее от сорта, и важнейшее значение приобретает тщательное изучение разнообразия сортов входящих в их состав белков и их иммуногенности для выявления безглютеновых генотипов. В последующем это даст возможность выбрать

безопасные генотипы для использования в безглютеновом питании и позволит создавать новые сорта, не содержащие глютен [13, 15].

Западная Сибирь (и, в частности, Тюменская область) считается оптимальным регионом для выращивания овса в продовольственных целях. С 20-х гг. XX в. в регионе было районировано 19 сортов, отличающихся по месту происхождения, родословной и хозяйственно значимым признакам. Кроме того, показано, что эти генотипы характеризуются достаточно высоким разнообразием по компонентному составу авенинов, а все сорта местной селекции уникальны по аллельному составу авенин-кодирующих локусов [1, 18].

Цель исследований: оценка иммуногенности генотипов овса посевного, возделываемых на территории Тюменской области в период с 1929 по 2023 гг. для использования в селекции безглютеновых сортов.

Материал и методы исследований

Испытания проводили в лаборатории геномных исследований в растениеводстве ТюмНЦ СО РАН в 2023 г. Для анализа были отобраны сорта овса посевного, включенные в Государственный реестр селекционных достижений по Тюменской области в 1929–2023 гг. Также были изучены перспективный сорт Сириус и селекционные линии ТМ 16–33–11, ТМ 16–58–4 селекции ТюмНЦ СО РАН (табл. 1).

Всего было проанализировано 22 генотипа. Материал для исследований был предоставлен из коллекции Федерального исследовательского центра «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова и коллекции научно-исследовательского института Северного Зауралья – филиал ТюмНЦ СО РАН».

Определение количества глютена в зерне осуществляли методом непрямого неконкурентного гетерогенного иммуноферментного анализа (ИФА сэндвич-типа) с использованием тест-систем Ridascreen Gliadin R7001 (R-Biopharm, Германия) и AgraQuant глютен G12 (Romer Labs, Австрия), основанных на применении антител R5 и G12, соответственно.

Для анализа зерновки каждого образца предварительно освобождали от пленок, затем отбирали пробы массой 5 г. Образцы гомогенизировали с применением лабораторной мельницы. Экстракцию и определение глютена проводили: для тест-систем Ridascreen Gliadin R7001 – в соответствии с методическими указаниями 4.1.2880–11 [2] и инструкцией производителя, с использованием коктейля (официальный метод R5-Мендес); AgraQuant глютен G12 – согласно рекомендациям производителя.

Для оценки содержания глютена с применением тест-систем Ridascreen Gliadin R7001 взвешивали по 1 г каждого гомогенизированного образца в пробирках емкостью 50 мл. К пробе добавляли 10 мл коктейля Мендеса. Далее пробы инкубировали на водяной бане в течение 40 мин при 50°C, периодически встряхивая. После охлаждения образцов до комнатной температуры к ним добавляли 30 мл 80%-ного этанола с последующим встряхиванием в течение 1 ч на ротационном перемешивателе (Loopster basic, ИКА, Германия). Далее 2 мл экстракта центрифугировали в течение 10 мин при 10 000 g. Сразу после этого полученные супернатанты анализировали методом ИФА согласно протоколу производителя.

Для анализа содержания глютена с помощью тест-систем AgraQuant глютен G12 отбирали по 0,25 г гомогенизированного образца и смешивали с 2,5 мл экстракционного буфера из набора. Экстракт инкубировали на водяной бане в течение 40 мин при 50°C, затем к охлажденному образцу приливали 7,5 мл 80%-ного этанола и смешивали в течение 1 ч на ротационном перемешивателе. Затем пробы центрифугировали в течение 10 мин при 2000 g, разбавляли полученный супернатант буфером разведения в пропорции 1:10 и сразу проводили оценку содержания глютена в соответствии с протоколом производителя.

Исследованные образцы овса посевного

№ п/п	Сорт	Разновидность	Регион/страна происхождения	Период районирования, гг.
1	Победа	mutica	Швеция	1929–1963
2	Золотой дождь	aurea	Швеция	1929–1976
3	Орел	mutica	Швеция	1939–1982
4	Ударник У-883	aurea	Красноярский край, РФ	1957–1960
5	Нидар	mutica, aristata	Норвегия	1957–1963
6	Северянин	aurea	Архангельская обл., РФ	1966–1974
7	Скороспелый	aurea	Кировская обл., РФ	1974–1981
8	Нарымский 943	mutica	Томская обл., РФ	1975–1996
9	Таежник	aurea	Томская обл., РФ	1977–2001
10	Астор	mutica, aristata	Нидерланды	1978–2000
11	Сельма	mutica	Швеция	1981–1993
12	Мегион	mutica	Тюменская обл., РФ	1993–н.в.
13	Новосибирский 88	mutica	Новосибирская обл., РФ	1994–2004
14	Тюменский голо- зерный	inermis	Тюменская обл., РФ	2000–н.в.
15	Талисман	mutica	Тюменская обл., РФ	2002–н.в.
16	Отрада	mutica	Тюменская обл., РФ	2014–н.в.
17	Фома	mutica	Тюменская обл., РФ	2015–н.в.
18	Тоболяк	mutica	Тюменская обл., РФ	2020–н.в.
19	Радужный	mutica	Тюменская обл., РФ	2022–н.в.
20	Сириус	mutica	Тюменская обл., РФ	–
21	ТМ 16–33–11	mutica	Тюменская обл., РФ	–
22	ТМ 16–58–4	mutica	Тюменская обл., РФ	–

Примечание. н.в. – настоящее время; – – образец не включен в Государственный реестр селекционных достижений по Тюменской области.

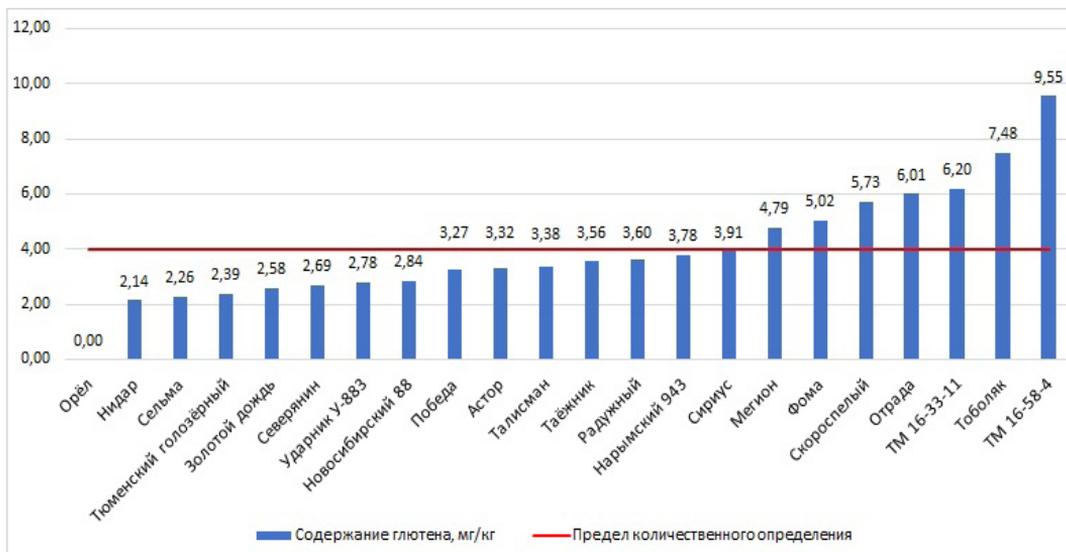


Рис. 1. Содержание глютена, мг/кг, в образцах овса посевного, определенное с использованием моноклонального антитела G12

Примечание. Различия достоверны при $F = 43,40$; $p < 0,05$; $SS = 0,88$; $MS = 0,04$; $d.f. = 11$

В мировой литературе описано несколько принципов подразделения сортов овса на группы в зависимости от их иммунореактивности с антителами G12 и R5. Ряд исследователей предлагает разделение на 3 группы: со значительным сродством к антителу (более 100 мг/кг); с промежуточной реактивностью; группу, чьи проламинины не распознаются антителом [9, 25]. С другой стороны, V. Dvořáček и соавт. (2020) при исследовании коллекции из 132 сортов посевного овса подразделили их на группы с относительно высоким (12–16 мг/кг) и низким содержанием глютена. При этом не были выявлены образцы, содержание глютена в которых превышало бы 20 мг/кг. Полученные нами результаты согласуются с этим утверждением. Все проанализированные нами образцы можно отнести к группе с низким содержанием глютена.

Необходимо отметить, что V. Dvořáček и соавт. (2020) при многолетнем изучении токсических свойств сортов овса выявили сильную изменчивость содержания глютена по годам: у большинства образцов она достигала 30%. Причиной такой изменчивости может быть как влияние условий окружающей среды, так и идентификация глютенотипных эпитопов в авенинах, отличающихся от таковых глютена пшеницы [12, 21].

Известно, что иммуногенность сортов овса, оцениваемая по активации Т-клеток, коррелирует с реактивностью к основным моноклональным антителам [12]. Это означает, что образцы овса, характеризующиеся низким содержанием глютена по результатам иммуноферментного анализа, имеют широкие перспективы для использования в безглютеновой диете. Отдельного внимания заслуживает сорт Орёл, содержание глютена в пробе которого было ниже предела обнаружения (менее 2 мг/кг). Данный генотип является перспективным для использования в селекции на получение неиммуногенных сортов, пригодных для использования в питании людей, страдающих аллергией на глютен.

Авенины овса наследуются кодоминантно и контролируются тремя независимыми кластерами генов, именуемыми как авенин-кодирующие локусы *Avn A*, *Avn B*, *Avn C*. Для каждого из кластеров описаны аллели, которые контролируют синтез определенных групп авенинов. При проведении нативного электрофореза можно

идентифицировать эти аллели благодаря наличию каталога генетической номенклатуры, описывающего блоки компонентов, контролируемые ими. Эти блоки весьма стабильны и наследуются без изменений. Частота рекомбинаций внутри блоков компонентов авенина крайне низка. Все это позволяет отслеживать передачу отдельных блоков от родительских генотипов к гибридам на протяжении большого количества поколений.

Необходимо отметить, что в предыдущих исследованиях нами было установлено, что сорт Орёл по компонентному составу авенинов идентичен второму биотипу сорта Победа и имеет генетическую формулу авенина *Avn 11.11.2*, формула сорта Победа: *Avn 2+11.11.2* [1]. Наличие идентичных аллелей АКЛ объяснимо тем, что сорт Орёл получен методом отбора из сорта Победа. При этом более высокое содержание глютенотипных белков в сорте Победа, по нашему мнению, связано с наличием аллеля *A2* в его первом биотипе. Вероятно, один или несколько генов, образующих кластер с аллельным состоянием *A2*, контролируют синтез глютенотипных пептидов.

В исследованной коллекции присутствуют еще 2 образца, формула авенинов которых отличается от сорта Орёл лишь одним аллелем, – это Талисман и Фома: *Avn 11.4.2* и *Avn 11.11.8* соответственно. Содержание глютена в пробах этих сортов составило 3,38 и 5,02 мг/кг соответственно. Таким образом, можно предположить, что аллели *B4* и *C8* также контролируют синтез глютенотипных пептидов.

Ранее нами было установлено, что частота встречаемости аллелей АКЛ в популяциях сортов овса, районированных в Тюменской области, изменялась с течением времени и зависела от набора сортов, возделываемых в конкретный период. Аллели, характерные для иностранных сортов, постепенно были замещены аллелями сортов российской, а затем и местной селекции. Только иностранные или инорайонные сорта возделывались в Тюменской области вплоть до 1993 г. [18]. К настоящему времени успешное развитие направления селекции зернофуражных культур в регионе привело к тому, что 100% возделываемых в области сортов – это сорта местной селекции.

Чтобы оценить, как повлиял переход на сорта собственной селекции на содержание глютена в зерне, все обследованные образцы были подразделены на 2 группы: сорта, выведенные в ТюмНЦ СО РАН, и инорайонные/иностраные сорта (табл. 2).

Установлено, что среднее содержание глютена в образцах местной селекции почти в 2 раза выше, чем у инорайонных: разница между средними значениями составляет 2,32 мг/кг. Отличия, по нашему мнению, обусловлены введением в скрещивания для получения этих сортов генетически отличающегося исходного материала. В данном случае более высокая иммунореактивность сортов местной селекции, вероятнее всего, связана с тем, что большей аллергенностью обладают включаемые в скрещивания генотипы.

Таблица 2

Среднее содержание глютена в образцах овса местной селекции и инорайонных/иностраных образцах, определенное с антителом G12

	Образцы	
	местной селекции	инорайонные/иностраные
Среднее содержание глютена, мг/кг	5,23±0,678	2,91±0,380

Примечание. Различия достоверны при $p = 0,0054$; $df = 20$; $t\text{-value} = -3,12$.

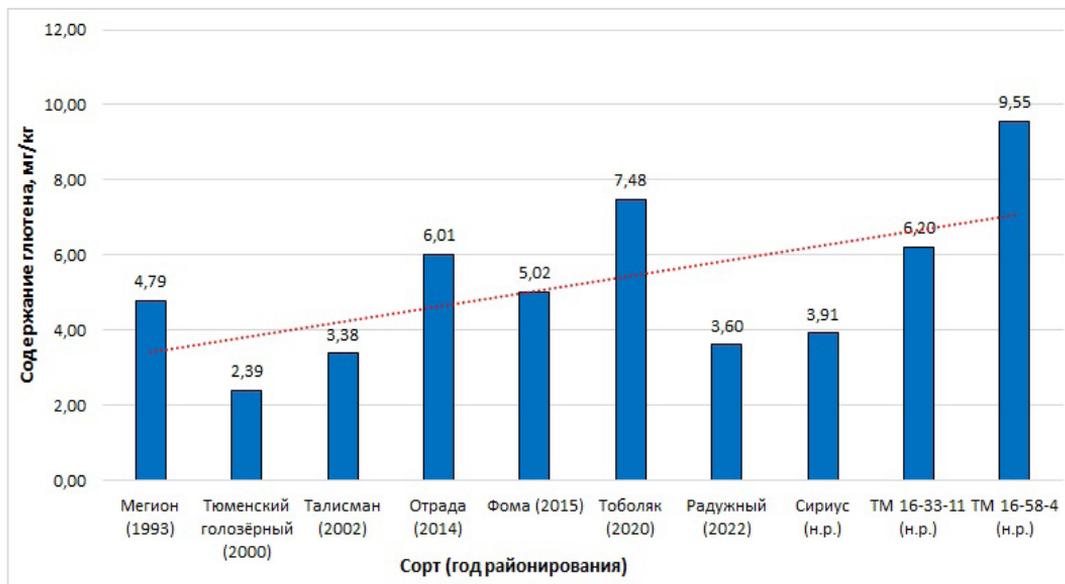


Рис. 2. Динамика содержания глютена в образцах овса Тюменской селекции: н.р. – образец не включен в Государственный реестр селекционных достижений
Примечание. Различия достоверны при $F = 23,56$; $p < 0,05$; $SS = 8,54$; $MS = 0,04$; $d.f. = 9$

Оценка динамики содержания глютена во времени в образцах местной селекции показала, что наблюдается тенденция повышения иммунореактивности (рис. 2). Исключение составляют сорта Радужный и Сириус, количество глютена в которых составляет 3,60 и 3,91 мг/кг соответственно. Оба образца получены от скрещивания сортов Тюменский голозерный и Мегион, которые характеризуются низким содержанием глютена. Данный факт свидетельствует о том, что для создания неиммуногенных генотипов овса необходимо подбирать исходный материал, характеризующийся низким содержанием глютена. С учетом крайне низкой вероятности рекомбинаций внутри блоков, контролируемых различными аллелями АКЛ, потомство, полученное от скрещивания генотипов с низким содержанием глютена, также будет характеризоваться неиммуногенностью.

Таким образом, объединение данных о характере наследования авенинов, об аллельном состоянии АКЛ исследуемых генотипов овса и о содержании в них глютена позволит успешно и направленно создавать сорта овса целевого назначения, пригодные для безглютенового питания.

Выводы

1. Ни один из проанализированных образцов не проявил иммунореактивности по отношению к антителу R5. Данное антитело в большей степени подходит для обнаружения загрязнения партий овса другими зерновыми культурами.

2. Содержание глютена, определенное с антителом G12, варьировало от 2,14 (Нидар) до 9,55 (ТМ 16–58–4) мг/кг. Все проанализированные сорта относятся к безглютеновым. В сорте Орёл содержание глютена было ниже предела обнаружения (менее 2 мг/кг).

3. Среднее содержание глютена в образцах селекции ТюмНЦ СО РАН составляет $5,23 \pm 0,678$ и достоверно превышает этот показатель у образцов иностранной и инорайонной селекции. Отмечена тенденция повышения иммунореактивности

у сортов местной селекции, что связано с введением в скрещивания более аллергенных сортов.

4. Иммунореактивность сортов связана с определенными аллелями авенин-кодирующих локусов. Аллели *A11*, *B11* и *C2*, характерные для сорта Орел, являются перспективными в качестве маркеров безглютеновых сортов.

5. Для успешного развития направления селекции на гипоаллергенность необходимы анализ аллельного состояния авенин-кодирующих локусов исходных генотипов и определение содержания в них глютена методом ИФА с антителом G12.

Работа выполнена по госзаданию № 122011300103–0 и при поддержке Западно-Сибирского межрегионального научно-образовательного центра мирового уровня.

Библиографический список

1. Любимова А.В., Еремин Д.И., Мамаева В.С. и др. Каталог биохимических паспортов сортов овса посевного сибирской селекции // Вестник КрасГАУ. – 2022. – № 5 (182). – С. 73–83. – DOI: 10.36718/1819-4036-2022-5-73-83.

2. Методы определения глютена в продовольственном сырье и пищевых продуктах: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. – 32 с.

3. Amador M., Iehisa J., Martín C., Losada F. Functional genomic characterization of immunogenic gluten proteins from oat cultivars that differ in toxicity for celiac disease // Proceedings of the Nutrition Society. – 2020. – 79(OCE2). – E550. – DOI: 10.1017/S0029665120004991.

4. Cardo A., Churruga I., Lasa A. et al. Nutritional Imbalances in Adult Celiac Patients Following a Gluten-Free Diet // Nutrients. – 2021. – № 13. – Pp. 2877. – DOI: 10.3390/nu13082877.

5. CODEX STAN WHO/FAO (2008) Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. CODEX STAN118–1979. Adopted in 1979. Amendment: 1983 and 2015. – URL: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B118-1979%252FCXS_118e_2015.pdf (дата обращения: 10.09.2023).

6. Cohen I.S., Day A.S., Shaoul R. To Be Oats or Not to Be? An Update on the Ongoing Debate on Oats for Patients with Celiac Disease // Front. Pediatr. – 2019. – № 7. – P. 384. – DOI: 10.3389/fped.2019.00384.

7. Col Hoffmanová I., Sánchez D., Szczepanková A. et al. The Pros and Cons of Using Oat in a Gluten-Free Diet for Celiac Patients // Nutrients. – 2019. – № 11. – P. 2345. – DOI: 10.3390/nu11102345.

8. Colombo F., Di Lorenzo C., Biella S. et al. Ancient and Modern Cereals as Ingredients of the Gluten-Free Diet: Are They Safe Enough for Celiac Consumers? // Foods. – 2021. – № 10 (4). – P. 906. – DOI: 10.3390/foods10040906.

9. Comino I., Real A., de Lorenzo L. et al. Diversity in oat potential immunogenicity: basis for the selection of oat varieties with no toxicity in coeliac disease // Gut. – 2011. – № 60 (7). – Pp. 915–22. – DOI: 10.1136/gut.2010.225268.

10. Comino I., Torres M.I., Ruiz-Carnicer A. et al. Comparative reactivity of avenins from different pure oat varieties to gluten R5 and G12 ELISA immunomethods // Proceeding of the 32 Meeting, working group on prolamins analysis and toxicity: edited by Peter Koehler. United Kingdom, 27–29 September. – 2018. – United Kingdom, 2019. – Pp. 39–43.

11. *Daly M., Bromilow S.N., Nitride C. et al.* Mapping Coeliac Toxic Motifs in the Prolamin Seed Storage Proteins of Barley, Rye, and Oats Using a Curated Sequence Database // *Frontiers in Nutrition*. – 2020. – № 7. – DOI: 10.3389/fnut.2020.00087.
12. *Dvořáček V., Kotrbová-Kozak A., Kozová-Doležalová J. et al.* Identification of Perspective Oat Cultivars with a Minimum Content of Gluten Homologous Peptides // *Preprints*. – 2020. – P. 2020100596. – DOI: 10.20944/preprints202010.0596.v1.
13. *Gell G., Bugyi Z., Florides C.G. et al.* Investigation of Protein and Epitope Characteristics of Oats and Its Implications for Celiac Disease // *Frontiers in Nutrition*. – 2021. – № 8. – DOI: 10.3389/fnut.2021.702352.
14. *Kamal N., Tsardakas Renhuldt N., Bentzer J. et al.* The mosaic oat genome gives insights into a uniquely healthy cereal crop // *Nature*. – 2022. – № 606. – Pp. 113–119. – DOI: 10.1038/s41586-022-04732-y.
15. *Kosová K., Leišová-Svobodová L., Dvořáček V.* Oats as a Safe Alternative to Triticaceae Cereals for People Suffering from Celiac Disease? A Review // *Plant Foods Hum Nutr*. – 2020. – Jun. – V. 75 (2). – Pp. 131–141. – DOI: 10.1007/s11130-020-00800-8.
16. *Lacorn M.* Determination of Gliadin as a Measure of Gluten in Food by R5 Sandwich ELISA RIDASCREEN® Gliadin Matrix Extension: Collaborative Study 2012.01 // *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. – 2022. – Vol. 105, № 2. – Pp. 442–455. – DOI: 10.1093/jaoacint/qsab148.
17. *Leišová-Svobodová L., Sovová T. & Dvořáček V.* Analysis of oat seed transcriptome with regards to proteins involved in celiac disease // *Sci Rep*. – 2022. – № 12. – P. 8660. – DOI: 10.1038/s41598-022-12711-6.
18. *Lyubimova A.V., Tobolova G.V., Eremin D.I. et al.* Dynamics of the genetic diversity of oat varieties in the Tyumen region at avenin-coding loci // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. – 2020. – Vol. 24, № 2. – Pp. 123–130. – DOI: 10.18699/VJ20.607.
19. *Machado M.V.* New Developments in Celiac Disease Treatment // *Int J Mol Sci*. – 2023. – № 24 (2). – P. 945. – DOI: 10.3390/ijms24020945.
20. *Marasco G., Cirotta G.G., Rossini B. et al.* Probiotics, Prebiotics and Other Dietary Supplements for Gut Microbiota Modulation in Celiac Disease Patients // *Nutrients*. – 2020. – № 12. – P. 2674. – DOI: 10.3390/nu12092674.
21. *Marín-Sanz M., Giménez M.J., Barro F. et al.* Prolamin content and grain weight in RNAi silenced wheat lines under different conditions of temperature and nitrogen availability // *Frontiers in plant science*. – 2020. – Vol. 11, № 314. – Pp. 1–11.
22. *Orjiokwe O.A.* Nutritional Management of Celiac Disease // *J Clin Exp Immunol*. – 2023. – Vol. 8 (2). – Pp. 561–572.
23. *Paudel D., Dhungana B., Caffè M. et al.* A Review of Health-Beneficial Properties of Oats // *Foods*. – 2021. – № 10. – P. 2591. – DOI: 10.3390/foods10112591.
24. *Roeckendorf N., Meckelein B., Scherf K. et al.* Identification of novel antibody-reactive detection sites for comprehensive gluten monitoring // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12 (7). – Pp. e0181566/1-e0181566/17.
25. *Silano M., Di Benedetto R., Maialeffi F. et al.* Avenins from different cultivars of oats elicit response by coeliac peripheral lymphocytes // *Scand J Gastroenterol*. – 2007. – № 42. – Pp. 1302–1305. – DOI: 10.1080/00365520701420750.
26. *Wieser H., Segura V., Ruiz-Carnicer Á. et al.* Food Safety and Cross-Contamination of Gluten-Free Products: A Narrative Review // *Nutrients*. – 2021. – № 13. – P. 2244. – DOI: 10.3390/nu13072244.
27. *Yu J.M., Lee J.H., Park J. – D. et al.* Analyzing Gluten Content in Various Food Products Using Different Types of ELISA Test Kits // *Foods*. – 2021. – № 10. – P. 108. – DOI: 10.3390/foods10010108.

ANALYSIS OF THE IMMUNOREACTIVITY OF AVENINS IN OATS (*AVENA SATIVA* L.) CULTIVATED IN WESTERN SIBERIA

A.V. LYUBIMOVA, D.I. EREMIN, M.N. FOMINA

(Federal Research Centre “The Tyumen Scientific Centre
of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”)

Celiac disease is an autoimmune disease that occurs in genetically susceptible people after eating prolamin-containing grains. The only cure for celiac disease is a lifelong gluten-free diet, but adherence to this diet can also have a negative impact on health. A good solution may be to include oat products in such a diet. However, different oat varieties differ in their immunogenicity, and studying the immunoreactivity of their prolamins to identify gluten-free genotypes is of utmost importance. The aim of the research was to assess the immunogenicity of varieties and promising breeding lines of oats cultivated in the Tyumen region in the period from 1929 to 2023 for use in the selection of gluten-free varieties. The amount of gluten in the grain was determined by enzyme-linked immunosorbent assay using test systems based on the use of R5 and G12 antibodies. It was found that none of the samples showed immunoreactivity to the R5 antibody. Using the G12 antibody, all the varieties analyzed were found to be gluten-free, with gluten content ranging from 2.14 (Nidar) to 9.55 (TM 16–58–4) mg/kg. The variety Orel deserves special attention, as the gluten content of its grain is less than 2 mg/kg. This genotype is promising for inclusion in the breeding process to produce gluten-free varieties. The average gluten content in the samples of local selection is 5.23 ± 0.678 mg/kg and significantly exceeds this index in foreign and non-regional varieties, which is associated with the introduction of more allergenic varieties in crossbreeding. The immunogenicity of varieties is associated with specific alleles of avenin-coding loci. Alleles A11, B11 and C2 may be promising as markers for gluten-free varieties. For the successful development of breeding of gluten-free oat varieties, it is necessary to analyze the allelic state of avenin-coding loci of the original genotypes and to determine their gluten content with the G12 antibody.

Key words: oats (*Avena sativa* L.), celiac disease, gluten-free diet, gluten, avenin, enzyme-linked immunosorbent assay, R5 and G12 antibodies, avenin-coding locus.

References

1. Lyubimova A.V., Eremin D.I., Mamaeva V.S. et al. Siberian oat varieties' biochemical passports catalog. *Bulletin of KSAU*. 2022;5(182):73–83. (In Russ.) <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-5-73-83>
2. Methods for determining gluten in food raw materials and food products: Guidelines. M.: Federal'niy tsentr gigieny i epidemiologii Rospotrebnadzora, 2011:32. (In Russ.)
3. Amador M., Iehisa J., Martín C., Losada F. Functional genomic characterization of immunogenic gluten proteins from oat cultivars that differ in toxicity for celiac disease. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2020;79(OCE2):E550. <https://doi.org/10.1017/S0029665120004991>
4. Cardo A., Churrua I., Lasa A. et al. Nutritional Imbalances in Adult Celiac Patients Following a Gluten-Free Diet. *Nutrients*. 2021;13:2877. <https://doi.org/10.3390/nu13082877>
5. CODEX STAN WHO/FAO (2008) Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. CODEX STAN118–1979. Adopted in 1979. Amendment: 1983 and 2015. URL: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&ur>

- l=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B118-1979%252FCXS_118e_2015.pdf (Access date: 10.09.2023)
6. Cohen I.S., Day A.S., Shaoul R. To Be Oats or Not to Be? An Update on the Ongoing Debate on Oats for Patients with Celiac Disease. *Front. Pediatr.* 2019;7:384. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00384>
 7. Col Hoffmanová I., Sánchez D., Szczepanková A. et al. The Pros and Cons of Using Oat in a Gluten-Free Diet for Celiac Patients. *Nutrients.* 2019;11:2345. <https://doi.org/10.3390/nu11102345>
 8. Colombo F., Di Lorenzo C., Biella S. et al. Ancient and Modern Cereals as Ingredients of the Gluten-Free Diet: Are They Safe Enough for Celiac Consumers? *Foods.* 2021;10(4):906. <https://doi.org/10.3390/foods10040906>
 9. Comino I., Real A., de Lorenzo L. et al. Diversity in oat potential immunogenicity: basis for the selection of oat varieties with no toxicity in coeliac disease. *Gut.* 2011;60(7):915–22. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.225268>
 10. Comino I., Torres M.I., Ruiz-Carnicer A. et al. Comparative reactivity of avenins from different pure oat varieties to gluten R5 and G12 ELISA immunomethods. *Proceeding of the 32 Meeting, working group on prolamin analysis and toxicity: edited by Peter Koehler.* United Kingdom, 27–29 September 2018. United Kingdom, 2019:39–43.
 11. Daly M., Bromilow S.N., Nitride C. et al. Mapping Coeliac Toxic Motifs in the Prolamin Seed Storage Proteins of Barley, Rye, and Oats Using a Curated Sequence Database. *Frontiers in Nutrition.* 2020;7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00087>
 12. Dvořáček V., Kotrbová-Kozak A., Kozová-Doležalová J. et al. Identification of Perspective Oat Cultivars with a Minimum Content of Gluten Homologous Peptides. *Preprints.* 2020:2020100596. <https://doi.org/10.20944/preprints202010.0596.v1>
 13. Gell G., Bugyi Z., Florides C.G. et al. Investigation of Protein and Epitope Characteristics of Oats and Its Implications for Celiac Disease. *Frontiers in Nutrition.* 2021;8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.702352>
 14. Kamal N., Tsardakas Renhuldt N., Bentzer J. et al. The mosaic oat genome gives insights into a uniquely healthy cereal crop. *Nature.* 2022;606:113–119. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04732-y>
 15. Kosová K., Leišová-Svobodová L., Dvořáček V. Oats as a Safe Alternative to Triticaceae Cereals for People Suffering from Celiac Disease? A Review. *Plant Foods Hum Nutr.* 2020;75(2):131–141. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00800-8>
 16. Lacorn M. Determination of Gliadin as a Measure of Gluten in Food by R5 Sandwich ELISA RIDASCREEN® Gliadin Matrix Extension: Collaborative Study 2012.01. *Journal of AOAC INTERNATIONAL.* 2022;05(2):442–455. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsab148>
 17. Leišová-Svobodová L., Sovová T. & Dvořáček V. Analysis of oat seed transcriptome with regards to proteins involved in celiac disease. *Sci Rep.* 2022;12:8660. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12711-6>
 18. Lyubimova A.V., Tobolova G.V., Eremin D.I. et al. Dynamics of the genetic diversity of oat varieties in the Tyumen region at avenin-coding loci. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2020;24(2):123–130. <https://doi.org/10.18699/VJ20.607>
 19. Machado M.V. New Developments in Celiac Disease Treatment. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):945. <https://doi.org/10.3390/ijms24020945>
 20. Marasco G., Ciota G.G., Rossini B. et al. Probiotics, Prebiotics and Other Dietary Supplements for Gut Microbiota Modulation in Celiac Disease Patients. *Nutrients.* 2020;12:2674. <https://doi.org/10.3390/nu12092674>
 21. Marín-Sanz M., Giménez M.J., Barro F. et al. Prolamin content and grain weight in RNAi silenced wheat lines under different conditions of temperature and nitrogen availability. *Frontiers in plant science.* 2020;11(314):1–11.

22. *Orjiekwe O.A.* Nutritional Management of Celiac Disease. *J Clin Exp Immunol.* 2023;8(2):561–572.
23. *Paudel D., Dhungana B., Caffè M. et al.* A Review of Health-Beneficial Properties of Oats. *Foods.* 2021;10:2591. <https://doi.org/10.3390/foods10112591>
24. *Roeckendorf N., Meckelein B., Scherf K. et al.* Identification of novel antibody-reactive detection sites for comprehensive gluten monitoring. *PLoS One.* 2017;12(7):e0181566/1-e0181566/17.
25. *Silano M., Di Benedetto R., Maialetti F. et al.* Avenins from different cultivars of oats elicit response by coeliac peripheral lymphocytes. *Scand J Gastroenterol.* 2007;42:1302–1305. <https://doi.org/10.1080/00365520701420750>
26. *Wieser H., Segura V., Ruiz-Carnicer Á. et al.* Food Safety and Cross-Contamination of Gluten-Free Products: A Narrative Review. *Nutrients.* 2021;13:2244. <https://doi.org/10.3390/nu13072244>
27. *Yu J.M., Lee J.H., Park J. – D. et al.* Analyzing Gluten Content in Various Food Products Using Different Types of ELISA Test Kits. *Foods.* 2021;10:108. <https://doi.org/10.3390/foods10010108>

Любимова Анна Валерьевна, заведующий лабораторией геномных исследований в растениеводстве ТюмНЦ СО РАН, канд. биол. наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; 625026, Российская Федерация, Тюменская обл., г. Тюмень, ул. Малыгина, 86; e-mail: ostapenkoav88@yandex.ru; тел.: 8 (952) 34–108–87

Ерёмин Дмитрий Иванович, ведущий научный сотрудник лаборатории геномных исследований в растениеводстве ТюмНЦ СО РАН, д-р биол. наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; 625026, Российская Федерация, Тюменская обл., г. Тюмень, ул. Малыгина, 86; e-mail: soil-tyumen@yandex.ru; тел.: 89129271386

Фомина Мария Николаевна, ведущий научный сотрудник лаборатории селекции зернофуражных культур, канд. с.-х. наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; 625026, Российская Федерация, Тюменская обл., г. Тюмень, ул. Малыгина, 86; e-mail: maria_f72@mail.ru; тел.: (3452) 76–40–54

Anna V. Lyubimova, CSc (Bio), Head of the Laboratory of Genomic Research in Crop Production, Federal Research Centre “The Tyumen Scientific Centre of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences” (86, Malygina Str., Tyumen, 625026, Russian Federation; phone: +7 (952) 34–108–87; E-mail: ostapenkoav88@yandex.ru)

Dmitriy I. Eremin, DSc (Bio), Leading Research Associate, Laboratory of Genomic Research in Crop Production, Federal Research Centre “The Tyumen Scientific Centre of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences” (86, Malygina Str., Tyumen, 625026, Russian Federation; phone: +7 (912) 927–13–86; E-mail: soil-tyumen@yandex.ru)

Maria N. Fomina, CSc (Ag), Leading Research Associate, Laboratory of Breeding Grain and Forage Crops, Federal Research Centre “The Tyumen Scientific Centre of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences” (86, Malygina Str., Tyumen, 625026, Russian Federation; phone: +7 (3452) 76–40–54; E-mail: maria_f72@mail.ru)