









^{1,2}М.Д. Амандыкова , ²Қ.Ж. Досыбаев , ¹А.М. Байбағысов , ¹И.А. Литус ,
¹М.К. Икласов , ²А.С. Мусаева , ^{1,2}Б.О. Бекманов , ³Н. Сайто 

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: makpal_30.01@mail.ru

²ҚР БҒМ ҒК «Жалпы генетика және цитология институты», Қазақстан, Алматы қ.

³Популяциялық генетика бөлімі, Ұлттық генетика институты, Жапония, Мисима қ.

АЛМАТЫ ОБЛЫСЫ ТҮЙЕЛЕРІНДЕ CSN3 ГЕНІНІҢ ТАРАЛУ ЖИІЛІГІ

Андатпа. Түйе шаруашылығы еліміздегі тағам және жеңіл өнеркәсіпті сүт, жүн, тері және т.б. өнімдермен қамтамасыз ететін ауылшаруашылығының экономикалық тұрғыдан маңызды саласы болып табылады. Әсіресе, түйе сүтінен алынатын шұбат өзінің ерекше дәмі мен емдік қасиеттерінің арқасында нарықта жоғары сұранысқа ие. Осыған байланысты түйе шаруашылығын сүтті бағытта жүргізуді тиімді ету мақсатында селекциялық жұмыстар жүргізу өте маңызды. Түйе сүтінің құрамына кіретін казеиндердің жалпы мөлшері сүт белогының орташа шамамен 75 % жуығын құрайды. Бұл казеиндер CSN1S1, CSN1S2, CSN2 және CSN3 гендерімен кодталатын төрт фракциядан құралады: альфа S1, альфа S2, бета және каппа-казеин. Аталған гендердің генетикалық әртүрлілігі сүттің сандық және технологиялық қасиеттерін анықтайды. Бұл гендер бойынша гомозиготалы жануарларды сұрыптау және келесі ретте көбейту сүттің сапалық қасиеттерін, соның ішінде, майлылығы мен құнарлылығын арттыру мақсатында жүргізіледі. Аталған гендерді зерттеудің аса тиімді әрі қолжетімді әдістерінің бірі – PCR-RFLP әдісі.

Бұл зерттеу жұмысында Алматы облысына қарасты шаруа қожалықтарындағы екіөркешті түйелердің (*Camelus bactrianus*) бірнеше популяцияларында сүттің сапалық қасиеттерінің қалыптасуына қатысатын CSN3 генінің полиморфизмі зерттелді. Зерттеудегі 53 түйенің арасында «пайдалы» аллель цитозиннің (C) жиілігі 0,39 құрады. Сонымен бірге, зерттелген популяциялар арасында генотиптердің таралуы бойынша Харди-Вайнберг тепе-теңдігі де анықталды ($\chi^2 = 12,1$).

Түйін сөздер: түйелер, сүтті өнімділік, каппа-казеин, PCR-RFLP-талдау.

^{1,2}M.D. Amandykova, ²K.Zh. Dossybayev, ¹A.M. Baibagysov, ¹I.A. Litus,
¹M.K. Iklasov, ^{1,2}A.S. Mussayeva, ²B.O. Bekmanov, ³N. Saitou

¹al-Farabi Kazakh national university, Kazakhstan, Almaty, e-mail: makpal_30.01@mail.ru

²Institute of general genetics and cytology» SC MES RK, Kazakhstan, Almaty

³Division of Population Genetics, National Institute of Genetics, Japan, Mishima

CSN3 gene distribution frequency in camels of Almaty region

Abstract. Camel breeding is the important industry of agriculture which provides the food and light industry with milk, wool, leather, etc. products. Especially, shubat obtained from camel milk due to its special taste and medical properties is in great demand in the market. In this way, in order to improve the breeding of camels in the dairy direction, it is very important to carry out selection work in this direction. The total amount of caseins that make up camel milk is about 75% of milk protein. These caseins consist of four fractions encoded by the genes CSN1S1, CSN1S2, CSN2 and CSN3: alpha s1, alpha s2, beta and kappa-casein. Genetic polymorphism of the above-mentioned genes determines the quantitative and technological properties of milk. Propagation of homozygous animals by these genes is carried out in order to improve the qualitative properties of milk, namely fat content and nutrition. The most beneficial and affordable method for studying these genes is the PCR-RFLP method.

In this work, there was studied the polymorphism of the CSN3 gene, which is involved in the formation of qualitative traits of milk in several two-humped camel (*Camelus bactrianus*) populations that are bred in farms of the Almaty region. Among the 53 camels selected for study, the «useful» cytosine frequency is 0.39. As well, among the studied populations, Hardy-Weinberg equilibrium was determined by the distribution of genotypes ($\chi^2 = 12.1$).

Key words: camels, dairy productivity, kappa casein, PCR-RFLP analysis.

^{1,2}М.Д. Амандыкова, ²К.Ж. Досыбаев, ¹А.М. Байбагысов, ¹И.А. Литус,
¹М.К. Икласов, ²А.С. Мусаева, ^{1,2}Б.О. Бекманов, ³Н. Сайто

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: makpal_30.01@mail.ru

²«Институт общей генетики и цитологии» НК МОН РК, Казахстан, г. Алматы

³Отдел популяционной генетики, Национальный институт генетики, Япония, г. Мисима

Частота распределения гена *CSN3* у верблюдов Алматинской области

Аннотация. Верблюдоводство является важной отраслью сельского хозяйства, которая обеспечивает пищевую и легкую промышленность молоком, шерстью, кожей и т.п. продукцией. Особенно, шубат, получаемый из верблюжьего молока благодаря своему особенному вкусу и лечебным свойствам, имеет большой спрос на рынке. В связи с этим, с целью усовершенствования разведения верблюдов в молочном направлении очень важно проводить селекционные работы. Общее количество казеинов, входящих в состав верблюжьего молока, составляет около 75 % молочного белка. Эти казеины состоят из четырех фракций, кодируемых генами *CSN1S1*, *CSN1S2*, *CSN2* и *CSN3*: альфа s1, альфа s2, бета и каппа-казеин. Генетический полиморфизм вышеназванных генов определяют количественные и технологические свойства молока. Размножение гомозиготных животных по этим генам проводится с целью улучшения качественных свойств молока, а именно жирность и питательность. Самый выгодный и доступный метод изучения этих генов метод PCR-RFLP.

В этой работе был изучен полиморфизм гена *CSN3*, который участвует в становлении качественных признаков молока в нескольких популяциях двугорбых верблюдов (*Camelus bactrianus*), которые разводятся в хозяйствах Алматинской области. Среди 53 верблюдов, отобранных для изучения, частота «полезного» аллеля цитозина составляет 0,39. Также, среди изученных популяций было определено равновесие Харди-Вайнберга по распределению генотипов ($\chi^2 = 12,1$).

Ключевые слова: верблюды, молочная продуктивность, каппа-казеин, PCR-RFLP анализ.

Кіріспе

Түйе шаруашылығы Қазақстанда көне заманнан келе жатқан аса кең таралған шаруашылық саласы болып табылады. Еліміз өзінің Еуразия құрылығындағы алатын географиялық орнына байланысты түйе шаруашылығын дамытудың орталығы болып есептеледі және оның көптеген аймақтары түйе шаруашылығын жүргізу үшін аса қолайлы [1]. Мысалы, Қазақстанның 180 млн. гектардан аса жайылымдық жерлерінің 80 млн. гектары шөлді, ал 36 млн. гектары шөлейтті аймақтарда орналасқан. Осы жайылымдардың қазіргі кезде тек 43% ғана пайдаланылады [2]. Басқа ауылшаруашылық мақсаттарда пайдалануға жарамайтын мұндай өнімсіз жайылымдық жерлерді толық және тиімді пайдалану мақсатында қой және жылқы шаруашылығымен қатар, түйе шаруашылығын да дамытуға бағытталу қажет. Қазақстандағы шаруа қожалықтары негізінен келесі түйе тұқымдарын өсіреді: Бактриан, Түрікмен Арванасы, Дромедар және Аруана [2]. Асыл тұқымды түйелерді еліміздің оңтүстік және батыс аймақтарынан кездестіруге болады. Қазақстанның физикалық-географиялық келбетін ескере отырып, түйе шаруашылығының, негізінен, бактриандарға бағытталғандығы аңғарылады. Ал дромедарлар мен олардың аралық гибридтері аса көп

таралмаған. Дромедарлар мен бактриандардан алынған бірінші ұрпақ гибрид «нар» деген атауға ие болды. Олардың бағалығы өте жоғары. Мәселен, нарлардың ірілігі, физикалық күшінің мол болуы, етті және сүтті өнімділігінің де жоғары болуы оларды жоғарыда аталған бактриандар мен дромедарларға қарағанда шаруашылық үшін тиімді етеді [3]. Осыған байланысты соңғы жылдары бұл гибридтерді генетикалық тұрғыдан зерттеуге деген қызығушылық артауда.

Ауылшаруашылық жануарларын генетикалық асылдандыру ең алдымен фенотипі жағынан жақсы сипатталатын мал санын селекциялық түрде көбейтуге негізделген. Қазіргі таңдағы түйелердің әртүрлі бағыттағы өнімділігі – мыңдаған жылдар бойы жүйелі түрде жүргізілген жасанды сұрыптаудың нәтижесі [4]. Сондықтан, геномика дәуірінде фенотиптер өз маңызын әлі де жойған жоқ және генетикалық зерттеу жұмыстарында пайдалану үшін нақты анықталған фенотиптердің болуы міндетті шара болып есептеледі [5]. Мал өсіруде молекулалы-генетикалық әдістерді дәстүрлі әдістермен үйлестіре қолдану келесі реттегі сұрыптау процесінің ұзақтығын әлдеқайда қысқартады. Түйелердің ауылшаруашылығындағы мүмкіндіктерін толығымен пайдалану үшін олардың генетикалық әртүрлілігін сақтай отырып, генетикалық оңтайландырудан өткізу қажет [6]. Мысалы, Түйелердің

аграрлық шаруашылыққа алып келетін үлесін арттыру мақсатында өсімталдылығы және ет сапасы бойынша жоғары генотиптерді таңдап алу қажет және т.б.

Түйелерді молекулалық-генетикалық зерттеу бірнеше бағыт бойынша жүзеге асырылады. *Huiguang Wu* және оның әріптестері бірөркешті бактриандар, екіөркешті түйелер және альпака түйелеріне толықгеномдық секвенирлеу жүргізіп олардың демографиялық тарихын анықтау мақсатында зерттеулер жүргізді [7].

Салыстырмалы геномдық анализ көмегімен түйелердің су және май алмасуының ерекшеліктерін қоса алғанда шөлге адаптация, ыстық температураға, құрғақшылыққа, қарқынды ультракүлгін сәулелерімен сәулелену сияқты стресстік реакцияларға төзімділігімен байланысты ерекшеліктердің себебін анықтауға болады. Бактриандық түйелердің транскриптомдық анализі қосымша осмореттелу, осмоқорғаныш және қанда глюкоза мөлшерінің жоғары болуына байланысты су жинақтау механизмдерін анықтауға мүмкіндік береді. Болжам бойынша, бұл физиологиялық механизмдер бүйректің шөл даланың жағдайларына эволюциялық бейімделуінің нәтижесі болып табылады. Аталған зерттеу жұмысы түйелердің құрғақ шөлге бейімделу барысында эволюциясын түсінуге мүмкіндік береді [7].

С. Наруия және оның әріптестері бірқатар түйелер популяцияларының митохондриялық ДНҚ анализ жүргізді. Зерттеу жұмысында бірқатар заманауи түйелер популяцияларымен қатар, GenBank халықаралық нуклеотидтер сиквенсінің қорынан алынған Солтүстік Америкада таралып, қазіргі кезде жойылған *Camelops* түйелерінен 37 үлгі митохондриялық ДНҚ сиквенсі зерттеуге алынды. Аталған сиквенстер арқылы филогенетикалық ағаш құрастырылып, туыстық деңгейін анықтауға және демографиялық өзгерістердің орын алуына байланысты *Camelidae* туыстасының эволюциясын түсіндіруге мүмкіндік туды [8].

Ресей ғалымдары түйелердің сегіз микросателлиттік локусына (*YWLL44*, *YWLL08*, *YWLL38*, *LCA66*, *LCA19*, *LCA37*, *CMS16*, *VOLP10*) бірауқытты анализ жүргізуге мүмкіндік беретін тест-жүйені жасап шығарды. Аталған жұмыста *Camelus bactrianus* түрін мысалға ала отырып, жасалған тест-жүйенің ақпараттылығы көрсетілген. Зерттеуге 32 бас түйе алынды. Анықталған аллельдердің саны *LCA37* локусында үшеуден *YWLL08* локусында он төртке дейін ауытқыды. Бір локусқа шаққанда

аллельдердің орташа саны $6,75 \pm 1,24$ құраса, тиімді аллельдердің саны $3,52 \pm 0,97$ көрсетті. Үш микросателлитті маркерде гетерозиготалық генотиптердің жетіспеушілігі анықталды. Осылайша, *YWLL44* және *LCA37* локустарында ол сәйкесінше 21,2 және 22,1 % құраса, *YWLL08* локусында 50,9 % көрсетті, бұл аталықтардың шектеулі санының пайдаланғандығын көрсетеді. Осылайша, түйелердің микросателлиттері негізінде жасалынып шығарылған тест жүйенің ақпараттылығы жоғары және бұл жүйе түйелерге популяциялық-генетикалық деңгейде зерттеу жүргізу үшін пайдалануға тиімді болып есептеледі [9].

Түйелер сүт өндірісіндегі маңызы бойынша ауылшаруашылық жануарларының ішінде ірі қара мал, буйвол, ешкі және қойдан кейін бесінші орынды иеленеді. Алайда олардың сүтті өнімділігінің қорек сапасына қарамастан жоғары болуы түйелерді табиғи жағдайлары қолайсыз аймақтарда өсіру үшін өте тиімді ауылшаруашылық жануары ретінде қарастыруға мүмкіндік береді. Сүтті бағытта өсірілетін түйелерге, негізінен, екіөркешті түйелер жатады. 2010 жылғы мәлімет бойынша 5,25 млн. түйелер 2,12 млн тонна сүт өндірген. Түйе сүтінің құрамында майлар, белоктар мен көмірсулардың мол болуына байланысты одан шұбат өнімі (Түркменияда – чала), сонымен қатар, май мен ірімшіктердің бірқатар түрлері және сүзбе дайындалады [10].

Түйе сүті инсулинге және инсулинтүпес белоктарға бай болады. Сонымен қатар, түйе сүтіндегі инсулин басқа жануарлардың сүтіндегі инсулинге қарағанда мицеллалармен қапталған, сондықтан ол асқорыту жолында протеолизге ұшырамай өз қасиеттерін сақтап қалады. Түйе сүтінің құрамында көптеп кездесетін лактоферин мен иммуноглобулин белоктары антимикробтық, антиоксиданттық қасиеттерімен қатар, қабыну процестерімен және кейбір вирустармен (АИВ және т.б.), саңырауқұлақтармен, көптеген ісік ауруларымен күресуде жоғары әсерге ие [2]. Құрамында қанықпаған май қышқылдарының көп мөлшерде болуы түйе сүтінің толыққанды тағамдық құнарлылығын анықтайды [11]. Өртүрлі әдебиет көздеріне сәйкес, түйе сүтінің құрамындағы С витаминінің мөлшері ірі қара сүтпен салыстырғанда 2-ден 10 есеге дейін жоғары [12].

Түйе сүті тек Қазақстан аумағында ғана емес, Қытай сияқты көрші елдерде де жоғары сұранысқа ие. Сондықтан соңғы жылдары елімізде түйе сүтін құрғақ ұнтақ түрінде экспортқа

шығару жоспарланып отыр. Бұл өнімге деген сұраныстың артуын ескере отырып, түйе сүтінің физика-химиялық құрамын үнемі бақылауда ұстаумен қатар, оны жақсарту бойынша жұмыстар жүргізу қажет.

Сүт белоктары және оларды кодтайтын гендер күйіс қайыратын жануарларда кеңінен зерттелген, алайда бұл ақпарат түйелерде әлі де шектеулі. Казеиндер (α_1s , β , α_2s және κ) жеке аутомалы гендермен (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN1S2* және *CSN3*) кодталады және түйе, қой және ешкі жануарларының 6 хромосомасында орналасады [13]. Казеиндер эволюциялық зерттеулер үшін ақпараттылығы жоғары молекулалық модель болып саналады [14] және аз зерттелген түрлерде олардың генетикалық сипаттамасын жасау қолға үйретілген және жабайы сүтқоректілер арасындағы филогенетикалық байланысты анықтауда тиімді құрал болмақ [15]. *Camelus dromedarius* бірөркешті түйелерінде *CSN2* және *CSN3* гендері толығымен сипатталған [16, 17], ал *CSN1S1* гені әлі де зерттелу үстінде [18]. Казеин гені түйелердің жақын туысы *Lama glama* таутайлақтарда мРНҚ [19] және белок деңгейінде [20] қаралған болса, альпакаларда (*Vicugna pacos*) казеин гендері аз зерттелген [21].

Негізінен екіөркешті түйелер сүтінен жасалатын шұбаттың құрамында β -казеин ең жоғары мөлшерде кездесетін белок болып табылады және *CSN2* генімен кодталады. Түйелерде басқа казеин түрлерімен салыстырғанда β -казеиндерді зерттеуге жете көңіл бөлінбеген. β -казеин сүттің мицеллаларының қалыптасуы мен оларды тұрақтандыруда маңызды болып табылады және олардың агрегациялануын алдын-алып, кальций фосфатының сүтте сақталуына ықпал етеді. Түйелерде β -казеин генінің ұзындығы 13 000 ж.н. құрайды және 5 экзон мен 4 интроннан тұрады. Түйе сүтінің белогына жүргізілген сандық талдау нәтижесінде, түйе сүті құрамында κ -казеинінің ірі қараның гомологиялық казеиніне қарағанда әлдеқайда төмен екендігі анықталды [22]. Түйе сүтінде мұндай белоктың гликозилденуінің қарқынды жүруіне байланысты κ -казеиннің бес түрлі изоформасы анықталды [23].

Бірқатар Ресей ғалымдары *PCR-RFLP* әдісін пайдалана отырып, α_1 және β казеиндер бойынша Қазақстан түйелер популяцияларына генотиптеу жүргізді. Нәтижесінде, зерттелген популяцияларда ДНҚ-полиморфизм тек κ -казеин локусы үшін анықталып, α_1 -казеинінде полиморфизм байқалған жоқ [24].

Осыған орай, бұл жұмыста Алматы облысының шаруа қожалықтарындағы

екіөркешті түйелердің (*Camelus bactrianus*) бірнеше популяцияларында сүттің сапалық қасиеттерінің қалыптасуына әсер ететін β -казеин (*CSN3*) генінің полиморфизмі зерттелді.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу материалдарын жинау. Зерттеуге Алматы облысындағы түйелердің 4 популяциясынан 53 түйе іріктеліп, олардан қан үлгілері жиналды. Түйелердің перифериялық қанының үлгілері құрамында қанның ұюын болдырмайтын ЭДТА бар вакуумдық пробиркаларға жиналды. Қанды жинау орнынан үлгілерді лабораторияға тасымалдау арнайы салқындатқыш контейнерлерде (0°C-10°C) жүзеге асырылды. Лабораторияға алып келінген қан үлгілері лабораториялық мұздатқыштарда (-20°C) пайдалануға дейін сақталды және геномдық ДНҚ бөліп алу мақсатында пайдаланылды.

Геномдық ДНҚ бөліп алу. Геномдық ДНҚ қан үлгілерінен бөліп алу «ДНК-сорб-В» (АмплиСенс, Ресей) жинағын пайдалану арқылы өндіруші ұсынған әдістеме бойынша жүзеге асырылды. Бөлініп алынған ДНҚ үлгілері -20°C болатын мұздатқышта сақтауға қойылды [25].

ДНҚ молекуласының сапасын және концентрациясын анықтау. ДНҚ молекуласының сапасын және концентрациясын анықтау үшін ДНҚ-фотометр (*Biofotometer Plus*, *Eppendorf*, Германия) және агарозалық гель-электрофорез әдістері пайдаланылды [26]. ДНҚ молекуласының сапалық қасиеттерін анықтау және оның құрамында РНҚ болу-болмауын тексеру 0,8% агарозалықгель-электрофорез көмегімен бромды этидий бояғышы қатысында жүзеге асырылды. ДНҚ молекулаларының анализі ультракүлгін сәулесінің астында *Quantum-ST5-1100* (*Vilber Lourmat*, Франция) құрылғысының көмегімен жүзеге асырылды.

PCR-RFLP-анализ. Түйелердің *CSN3* генінің ұзындығы 488 ж.н. болатын фрагментін амплификациялау келесі праймерлерді қолдану арқылы жүргізілді: *forward* 5'-CAC AAA GAT GAC TCT GCT ATC G-3' және *reverse* 5'-GCC CTC CAC ATA TGT CTG-3'. ПТР анализдің реакциялық жағдайы келесідей болды: 95°C (4 мин), 95°C (60 сек), 60°C (45 сек), 72°C (90 сек) және бұл аралық 35 циклді құрады. Осыдан кейін ПТР 72°C (10 мин) аяқталды. ПТР өнімдері құрамында бромды этидий бояғышы бар 1,5 % агарозды гель-электрофорезде тексерілді [16].

ПТР нәтижесінде пайда болған өнімдер келесі ретте 10U *AluI* рестриктаза ферментімен

(AG↓CT) (*NEB*) түні бойы 37°C температурада өңделуге қойылды. Өңделген үлгілер бромды этидий бояғышы бар 3.5% агарозды гель-электрофорезде және *SYBR Gold Nucleic Acid Gel Stain* (*ThermoScientific*, АҚШ) бояғышы бар 5% полиакриламидті гель-электрофорезде 1×TBE буфер қатысында талдаудан өткізілді. Барлық зерттелген популяцияларда аллельдер жиілігі мен Харди-Вайнберг тепе-теңдігі (χ^2) анықталды.

Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау

CSN3 генінің молекулалық сипаты бойынша онда екі полиморфты сайт анықталған. Алғашқысы ген тізбегінің –112 аймағында орналасқан g.975A>G транзициясы, яғни ол ешқандай реттеуші аймаққа әсерін тигізбейді. Екіншісі ген тізбегінің –17 аймағында болатын g.1029T>C транзициясы, бұл *CSN3* генінің 1-экзонының алдындағы промоторлы аймақта орналасқан. Мұндағы тізбекте тиминнің (Т) болуы гепатоциттердің ядролық факторының (*HNF-1*) қосымша консенустық тізбегіне жауапты. Бұл транскрипциялық фактордың туа біткен иммунитетке, глюкоза мен майлардың тасымалдануына қатысатындығы анықталған [27]. Сонымен қатар, фибриногендік тізбек гендерімен бірге гепатоциттер үшін арнайы гендердің де промоторлы аймақтарымен байланысады [28]. Алайда, *HNF-1* сүт безіндегі экспрессиясы жөнінде қарама-қайшы мәліметтер бар. *Dunn* және бірқатар авторлар адамның сүт безінде *HNF-1* транскрипттерінің болмайтындығын анықтады [29], ал тышқанның сүт безі гендерінің экспрессиясына арнайы микрочиптер арқылы жүргізілген талдаулар онда *HNF-1* транскрипттерінің бар екендігін көрсетті [30]. Алайда гепатоциттердің ядролық факторының басқа казеин гендерінің экспрессиясының (*HNF-3*) потенциалды реттеушісі болып табылатындығы анықталды [31]. Сондай-ақ, *HNF-1* транскрипттерінің аллельдік варианты түйенің β -казеин генінің реттелуіне әсер ететіндігі көрсетілді [16].

Зерттеудегі g.1029T>C транзициясы *AluI* эндонуклеазасы үшін рестрикциялық сайт қалыптастырады, сондықтан, үлгілерді жылдам генотиптеу үшін *PCR-RFLP* әдісі таңдалып алынды. ПТР өнімдерін (488 ж.н.) *AluI* рестриктаза ферменті арқылы өңдеу екі аллельді де анықтауға мүмкіндік береді. Мұндағы, ТТ генотипімен сипатталатын үлгілер үшін рестрикция

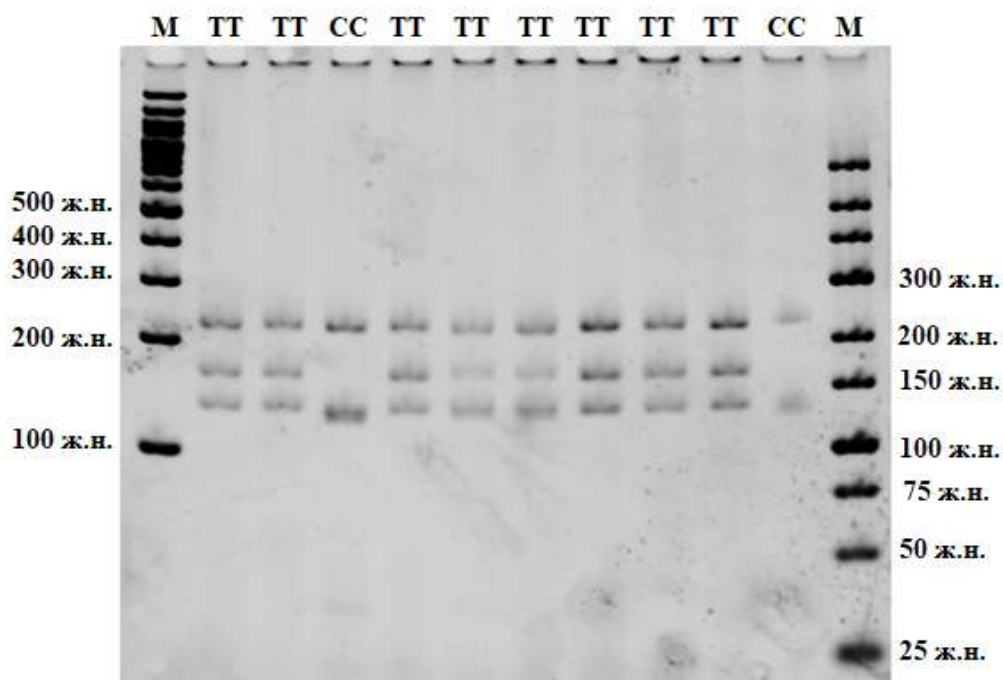
нәтижесі 3 фрагментпен анықталады, яғни 203 ж.н., 158 ж.н. және 127 ж.н. Ал, СТ гетерозиготалы генотиппен сипатталатын үлгілерде 158 ж.н. фрагмент 120 ж.н. және 38 ж.н. тұратын екі фрагментке бөлінеді, яғни мұнда рестрикция нәтижесінде 5 фрагмент пайда болады. СС генотипімен сипатталатын үлгілер 203 ж.н., 127 ж.н., 120 ж.н. және 38 ж.н. тұратын 4 фрагментті құрайды [16]. 1-ші суретте рестрикция өнімдерінің полиакриламидті гель-электрофорездегі нәтижелері көрсетілген. Суреттен әрбір генотипті сипаттайтын жолақтар анық көрінеді (1-сурет).

Аталған генотиптерді секвенирлеу нәтижесінде амплификацияланған фрагменттердің 121 орнында бірнуклеотидті полиморфизмнің (*SNP*) пайда болғандығы анықталды (С→Т). Мұндай бірнуклеотидті полиморфизм Т аллелінің осы орнында рестрикция сайтының (AG/CT) жойылуына алып келіп, әртүрлі үш генотиптердің (СС, СТ, ТТ) көрінуіне ықпал ететін екі аллельдің (С және Т) қалыптасуына алып келеді [32].

Алматы облысында орналасқан шаруа қожалықтарында өсірілетін түйелер арасынан зерттеуге таңдалып алынған 4 популяцияда зерттелген *CSN3* гені бойынша генотиптердің біркелкі таралмағандығын аңғаруға болады. 1- және 2-популяцияларда ТТ генотипінің басымдылығы байқалса, 3-популяцияда селекциялық тұрғыдан пайдалы гетерозиготалы СТ генотипі басымдылық көрсетті. Ал, 4-популяцияда, керісінше, түйе сүтінің құрамына кіретін β -казеиннің сапалық қасиеттерін анықтауға қатысатын СС генотипінің басым болатындығы анықталды (1-кесте).

1-кесте – Алматы облысы түйелер популяцияларында *CSN3* гені бойынша генотиптердің таралуы және аллельдер жиілігі

Популяция	Анықталған генотиптер				Аллельдер жиілігі	
	СС	СТ	ТТ	Барлығы	С	Т
1	1	3	4	8	0,30	0,70
2	1	2	6	9	0,18	0,82
3	2	10	8	20	0,37	0,63
4	8	3	5	16	0,44	0,56
Барлығы	15	18	20	53	0,39	0,61
$\chi^2 = 12,1 - pJ$						



1-сурет – Екі өркешті түйелердегі (*Camelus bactrianus*) *CSN3* гені бойынша генотиптерді анықтау. М – молекулалық массасы белгілі маркерлер (ThermoScientific, АҚШ). Сипаттамасы мәтіннің ішінде

Жалпы, барлық зерттелген 53 дарабас түйелердің арасында Т аллелі басымдылық көрсетіп, оның жиілігі 0,61 құрады. Популяциялар арасында Т аллелі бойынша айырмашылық 0,56 мен 0,82 аралығын көрсетті. Т аллелінің жалпы санының мұндай басымдылық көрсетуі Алматы облысы түйелерінде *CSN3* гені бойынша «пайдалы» генотиптер санын арттыру мақсатында сұрыптау жұмыстарын жүргізудің қажеттілігін анық етеді. С аллелінің жиілігі 0,39 мәнін көрсетті және популяциялар арасындағы айырмашылық 0,18 бен 0,44 аралығындағы мәнге ие болды. Бұл көрсеткіш, болжам бойынша, β -казеин генінің реттелуіне әсерін тигізетін *HNF-1* транскрипциялық факторының қосымша сайтының қалыптасуына жауапты болатын С аллелі бойынша бағытталған жылдам сұрыптау жұмыстарын жүргізуге мүмкіндік береді. *Pauciullo* және бірқатар авторлардың зерттеу жұмысында бір өркешті түйелерде (*Camelus dromedaries*) *SNP* Т>С зерттеліп, үш түрлі генотип келесідей жиілікпен анықталған: СС (18,09 %, ТТ (42,55 %), СТ (39,36 %)). ТТ генотипінің жиілігі басымдылық көрсететін мұндай көрсеткіштер бізде анықталған нәтижелерге сәйкес келеді [16]. Сонымен қатар,

зерттелген популяциялар арасында жоғарыда аталған үш түрлі генотиптердің таралуы бойынша Харди-Вайнберг тепе-теңдігі анықталды және $\chi^2 = 12,1$ мәнін құрады, дегенмен, мұндай нәтиженің бірнеше себептерін келтіруге болады. Біріншіден, зерттеуге алынған түйелер санының аздығы есебінен Харди-Вайнберг тепе-теңдігінің ауытқуы және екіншіден, шағылысу жүйесінің шектеулі болуы. Соңғы жағдайда түйелердің шағылысуы тек табиғи жолмен жүзеге асатындығымен, біз бір ғана аталық түйені пайдалану есебінен туындайтын инбридинг әсерін назарға алуымыз тиіс.

Қорытындылай келе, сүттілікті сипаттайтын гендер бойынша генетикалық полиморфизмді анықтау түйелердің сүтінің сандық және сапалық қасиеттерін жақсарту мақсатында бағытталған селекциялық жұмыстарды жүзеге асырудың аса тиімді әдісі болып есептеледі деп айтуға болады. Зерттеу барысында анықталған Алматы облысында ұсталатын түйелер популяцияларының *CSN3* генінің генетикалық әртүрлілігі жөніндегі ақпарат түйелердің басқа да популяцияларында сұрыптау жұмыстарын жүргізу үшін жаңа мүмкіндіктер береді.

Әдебиеттер

- 1 Baimukanov D.A., Baimukanov A. Genetics, selection and hybridization of camels // The monograph. Almaty: Bastay. – 2009. – P. 64.
- 2 <http://agroinfo.kz/verblyudovodstvo-v-kazakhstan/>
- 3 Sabir T. NURTAZI, Margulan K. IKLASOV, Kaoru IMAMURA Economic Use of Camels in Kazakhstan Past, Present and Future Perspectives // Journal of Arid Land Studies. – 2016. – Vol. 26, No 4. – P. 199 – 203.
- 4 Huiguang Wu et. al. Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environments // Nat Commun. – 2014. DOI:10.1038/ncomms6188
- 5 Naruya Saitou, Shayire Shokat DNA analyses of camels // Journal of Arid Land Studies. – 2017. – Vol. 26, No. 4. – P. 223-226.
- 6 Е.А.Гладырь, А.М.Зайцев и др. Моделирование тест-системы анализа микросателлитов верблюдов // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – №10. – С. 63-65.
- 7 <http://worldgonesour.ru/verblyudovodstvo/484-molochnaya-produktivnost.html>
- 8 Konuspayeva G., Lemarie E., Faye B., Loiseau G., Montet D. Fatty acid and cholesterol composition of camel's (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedaries* and hybrids) milk in Kazakhstan // Dairy Science and Technology. – 2008. – Vol. 88. – P. 327-340.
- 9 Конуспаева Г.С., Фай Б., Мелдебекова А.А., Нармуратова М.Х., Серикбаева А.Д. Типология верблюжьего молока различных регионов Казахстана // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2018. – Т.74. – №1. – С. 123-138.
- 10 Баймуканов Д.А. Селекция верблюдов породы казахский бактриан и методы их совершенствования // Алматы: Бастай. – 2009. – С. 280.
- 11 Gonzalez-Recio O, Coffey MP, Pryce JE. On the value of the phenotypes in the genomic era // Journal of Dairy Science. – 2014. – Vol. 97, No 12. 7905-15. doi: 10.3168/jds.2014-8125.
- 12 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6422876/>.
- 13 Rijnkels, M. Multi specie comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family // J. Mamm. Gland Biol. – 2002. – No 7. – P. 327–345.
- 14 Kawasaki K., Lafont A. G., Sire J. Y. The evolution of milk casein genes from tooth genes before the origin of mammals // Mol. Biol. Evol. – 2011. – Vol. 28. – P. 2053–2061.
- 15 Pauciuolo A, Shuiep E.T., Ogah M.D., Cosenza G., Di Stasio L., Erhardt G. Casein Gene Cluster in Camelids: Comparative Genome Analysis and New Findings on Haplotype Variability and Physical Mapping // Front. Genet. – 2019. – Vol. 10, No 748. doi: 10.3389/fgene.2019.00748.
- 16 Pauciuolo A., Shuiep E.S., Cosenza G., Ramunno L., Erhardt G. Molecular characterization and genetic variability at β -casein gene (CSN3) in camels // Gene. – 2013. – Vol. 513. – P. 22-30.
- 17 Pauciuolo et al. The β -casein in camels: Molecular characterization of the CSN2 gene, promoter analysis and genetic variability // Gene. – 2014. – Vol. 547, No 1. – P. 159-168.
- 18 Shuiep E., Giambra I.J., El Zubeir I.E., Erhardt G. Biochemical and molecular characterization of polymorphisms of α s1-casein in Sudanese camel (*Camelus dromedarius*) milk // Int. Dairy J. – 2013. – Vol. 28, No 2. – P. 88–93.
- 19 Pauciuolo A., Erhardt G. Molecular characterization of the llamas (*Lama glama*) casein cluster genes transcripts (CSN1S1, CSN2, CSN1S2, CSN3) and regulatory regions // PloS one. – 2015. – Vol. 10, No 4, doi: 10.1371/journal.pone.0124963.
- 20 Saadaoui B., Bianchi L., Henry C., Miranda G., Martin P., Cebo C. Combining proteomic tools to characterize the protein fraction of llama (*Lama glama*) milk // Electrophoresis. – 2014. – Vol. 35. – P. 1406–1418.
- 21 Erhardt G., Gu M., Wagner H., Di Stasio L., Pauciuolo A. Vicugna pacos α s1-casein: identification of new polymorphisms at the CSN1S1 gene // Proceedings of the 7th European Symposium on South American Camelids and 3rd European Meeting on Fibre Animals. – 2017 (June, Italy: Assisi, 36.). – P. 12–17.
- 22 Kappeler S.R., Farah Z., Puhani Z. 5'-Flanking regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of other species and can be divided into two distinct groups // J. Dairy Sci. – 2003. – Vol. 86. – P. 498–508.
- 23 Hinz K., O'Connor P.M., Huppertz T., Ross R.P., Kelly A.L. Comparison of the principal proteins in bovine, caprine, buffalo, equine and camel milk // J. Dairy Res. – 2012. – Vol. 79. – P. 185–191.
- 24 Yelubayeva M. E. , Buralkhiyev B. A. , Tyshchenko V. I. , Terletskiy V. P. , Ussenbekov Y. S. Results of *Camelus dromedarius* and *Camelus bactrianus* Genotyping by Alpha-S1-Casein, Kappa-Casein Loci, and DNA Fingerprinting // Cytology and Genetics. – 2018. – Vol. 52. – P. 179-185.
- 25 <https://docplayer.ru/63720103-Instrukciya-dnk-sorb-s-m.html>
- 26 Бекманов Б.О., Амиргалиева А.С., Мусаева А.С., Оразымбетова З.С., Досыбаев К.Ж., Хусаинова Э.М., Жапбасов Р.Ж., Жомартов А.М., Тулекей М.Д. Молекулярно-генетический анализ овец Едильбайской породы // Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. – 2015. – № 3. – С. 28-33.
- 27 Reiner A.P. et al. Common coding variants of the HNF1A gene are associated with multiple cardiovascular risk phenotypes in community-based samples of younger and older European-American adults: the coronary artery risk development in young adults study and the cardiovascular health study // Circ. Cardiovasc. Genet. – 2009. – Vol. 2. – P. 244–254.
- 28 Mendel D.B., Crabtree G.R. HNF- 1, a member of a novel class of dimerizing homeodomain proteins // J. Biol. Chem. – 1991. – Vol. 266. – P. 677–680.

- 29 Dunn C.A., Medstrand P., Mager D.L. An endogenous retroviral long terminal repeat is the dominant promoter for human β 1,3-galactosyltransferase 5 in the colon // PNAS. – 2003. – Vol. 100. – P. 12841–12846.
- 30 McBryan J., Howlin J., Kenny P.A., Shioda T., Martin F., ERalpha-CITED1 coregulated genes expressed during pubertal mammary gland development: implications for breast cancer prognosis // Oncogene. – 2007. – Vol. 26. – P. 6406–6419.
- 31 Schild T.A., Geldermann H. Variants within the 5'-flanking regions of bovine milk-protein-encoding genes. III. Genes encoding the Ca-sensitive caseins α s1, α s2 and β // Theor. Appl. Genet. -1996. – Vol. 93. – P. 887–893.
- 32 Othman et al., Genetic variations in two casein genes among Maghrabi camels reared in Egypt // Biosciences Biotechnology research Asia. – 2016. – Vol. 13. – No 1. – P. 473-480.

References

- 1 Baimukanov D.A., Baimukanov A. (2009) Genetics, selection and hybridization of camels. The monograph. Almaty: Bastay., pp. 64.
- 2 <http://agroinfo.kz/verblyudovodstvo-v-kazakhstan/>
- 3 Sabir T. NURTAZI, Margulan K. IKLASOV, Kaoru IMAMURA. (2016) Economic Use of Camels in Kazakhstan Past, Present and Future Perspectives. Journal of Arid Land Studies, vol. 26, no. 4, pp. 199 – 203.
- 4 Huiguang Wu et. al. (2014) Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environments. Nat Commun., DOI:10.1038/ncomms6188
- 5 Naruya Saitou, Shayire Shokat (2017) DNA analyses of camels. Journal of Arid Land Studies, vol. 26, no. 4, pp. 223-226.
- 6 Gladyr E.A., Zaycev A.M. et. al. (2011) Modelirovaniye test-sistemy analiza microsatellitov verbludov [Modeling a test system for the analysis of camel microsatellites]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK, no. 10, pp. 63-65.
- 7 <http://worldgonesour.ru/verblyudovodstvo/484-molochnaya-produktivnost.html>
- 8 Konuspayeva G., Lemarie E., Faye B., Loiseau G., Montet D. (2008) Fatty acid and cholesterol composition of camel's (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedaries* and hybrids) milk in Kazakhstan. Dairy Science and Technology, vol. 88, pp. 327-340.
- 9 Konuspayeva G.S., Fai B., Meldebekova A.A., Narmuratova M.Kh., Serikbayeva A.D. (2018) Tipologiya verbluzhego moloka razlichnyh regionov Kazakhstana [Typology of camel milk in various regions of Kazakhstan]. Vestnik KazNU, Seriya biologicheskaya, vol. 74, no. 1, pp. 123-138.
- 10 Baimukanov D.A. (2009) Selekcija verbludov porody kazakhskiy baktrian I metody ih sovershenstvovaniya [Selection of Kazakh Bactrian camels and methods for their improvement]. Almaty: Bastau, pp. 280.
- 11 Gonzalez-Recio O, Coffey MP, Pryce JE. (2014) On the value of the phenotypes in the genomic era. Journal of Dairy Science., vol. 97, no. 12, 7905-15. doi: 10.3168/jds.2014-8125.
- 12 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6422876/>.
- 13 Rijnkels, M. (2002) Multi specie comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family. J. Mamm. Gland Biol, no. 7, pp. 327–345.
- 14 Kawasaki K., Lafont A. G., Sire J. Y. (2011) The evolution of milk casein genes from tooth genes before the origin of mammals. Mol. Biol. Evol, vol. 28, pp. 2053–2061.
- 15 Pauciullo A, Shuiep E.T., Ogah M.D., Cosenza G., Di Stasio L., Erhardt G. (2019) Casein Gene Cluster in Camelids: Comparative Genome Analysis and New Findings on Haplotype Variability and Physical Mapping. Front. Genet., vol. 10, no. 748. doi: 10.3389/fgene.2019.00748.
- 16 Pauciullo A., Shuiep E.S., Cosenza G., Ramunno L., Erhardt G. (2013) Molecular characterization and genetic variability at β -casein gene (CSN3) in camels. Gene, vol. 513, pp. 22-30.
- 17 Pauciullo et al. (2014) The β -casein in camels: Molecular characterization of the CSN2 gene, promoter analysis and genetic variability. Gene, vol. 547, no. 1, pp. 159-168.
- 18 Shuiep E., Giambra I.J., El Zubeir I.E., Erhardt G. (2013) Biochemical and molecular characterization of polymorphisms of α s1-casein in Sudanese camel (*Camelus dromedarius*) milk. Int. Dairy J., vol. 28, no. 2, pp. 88–93.
- 19 Pauciullo A., Erhardt G. (2015) Molecular characterization of the llamas (*Lama glama*) casein cluster genes transcripts (CSN1S1, CSN2, CSN1S2, CSN3) and regulatory regions. PloS one, vol. 10, no. 4, doi: 10.1371/journal.pone.0124963.
- 20 Saadaoui B., Bianchi L., Henry C., Miranda G., Martin P., Cebo C. (2014) Combining proteomic tools to characterize the protein fraction of llama (*Lama glama*) milk. Electrophoresis, vol. 35, pp. 1406–1418.
- 21 Erhardt G., Gu M., Wagner H., Di Stasio L., Pauciullo A. (2017) Vicugna pacos α s1-casein: identification of new polymorphisms at the CSN1S1 gene. Proceedings of the 7th European Symposium on South American Camelids and 3rd European Meeting on Fibre Animals, Italy: Assisi, 36., pp. 12–17.
- 22 Kappeler S.R., Farah Z., Puhani Z. (2003) 5'-Flanking regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of other species and can be divided into two distinct groups. J. Dairy Sci., vol. 86, pp. 498–508.
- 23 Hinz K., O'Connor P.M., Huppertz T., Ross R.P., Kelly A.L. (2012) Comparison of the principal proteins in bovine, caprine, buffalo, equine and camel milk. J. Dairy Res., vol. 79, pp. 185–191.
- 24 Yelubayeva M. E. , Buralkhiyev B. A. , Tyshchenko V. I. , Terletskiy V. P. , Ussenbekov Y. S. (2018) Results of *Camelus dromedarius* and *Camelus bactrianus* Genotyping by Alpha-S1-Casein, Kappa-Casein Loci, and DNA Fingerprinting. Cytology and Genetics., vol. 52, pp. 179-185.

25 <https://docplayer.ru/63720103-Instrukciya-dnk-sorb-s-m.html>

26 Bekmanov B.O., Amirgaliyeva A.S., Musaeva A.S., Orazymbetova Z.S., Dossybayev K.Zh., Khusayinova E.M., Zhapbasov R.Zh., Zhomartov A.M., Tulekey M.D. (2015) Molekulyarno-geneticheskiy analiz ovec Edilbayskoy porody [Molecular genetic analysis of sheep of the Edilbay breed]. *Izvestiya Nacionalnoy akademii nauk Respubliki Kazakhstan*, no. 3, pp. 28-33.

27 Reiner A.P. et al. (2009) Common coding variants of the HNF1A gene are associated with multiple cardiovascular risk phenotypes in community-based samples of younger and older European-American adults: the coronary artery risk development in young adults study and the cardiovascular health study. *Circ. Cardiovasc. Genet.*, vol. 2, pp. 244–254.

28 Mendel D.B., Crabtree G.R. (1991) HNF-1, a member of a novel class of dimerizing homeodomain proteins. *J. Biol. Chem.*, vol. 266, pp. 677–680.

29 Dunn C.A., Medstrand P., Mager D.L. (2003) An endogenous retroviral long terminal repeat is the dominant promoter for human β 1,3-galactosyltransferase 5 in the colon. *PNAS*, vol. 100, pp. 12841–12846.

30 McBryan J., Howlin J., Kenny P.A., Shioda T., Martin F. (2007) ERalpha-CITED1 coregulated genes expressed during pubertal mammary gland development: implications for breast cancer prognosis. *Oncogene*, vol. 26, pp. 6406–6419.

31 Schild T.A., Geldermann H. (1996) Variants within the 5'-flanking regions of bovine milk-protein-encoding genes. III. Genes encoding the Ca-sensitive caseins α s1, α s2 and β . *Theor. Appl. Genet.*, vol. 93, pp. 887–893.

32 Othman et. al. (2016) Genetic variations in two casein genes among Maghrabi camels reared in Egypt. *Biosciences Biotechnology research Asia*, vol. 13, no. 1, pp. 473-480.