

М.Д. Амандыкова^{1,2*} , А.М. Тленшиева^{1,2} ,
А.С. Мусаева² , Н. Сайто³ 

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

²РГП «Институт генетики и физиологии» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы

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

*e-mail: makpal_30.01@mail.ru

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ВЕРБЛЮДОВ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ ПО ГЕНУ *CSN2* МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ

Верблюжьему молоку придается особое значение из-за его целебных свойств и высокой пищевой ценности. В сравнении с молоком других сельскохозяйственных животных, молоко верблюдов, а также получаемые из него продукты легко усваиваются организмом человека. Таким образом, изучение генетического разнообразия и селекция верблюдов по «предпочтительным» генотипам является важным составляющим верблюдоводства Казахстана.

Белок β -казеин составляет наибольшую часть казеиновой фракции верблюжьего молока, а кодирующий его ген *CSN2* считается основным геном наличия аллелей, связанных с различным уровнем экспрессии казеиновых белков. Транзиция g.2126A>G, расположенная в регионе ТАТА-бокса промотора гена *CSN2*, по предположениям, влияет на активность связывания фактора транскрипции, что в дальнейшем определяет интенсивность экспрессии данного гена. В изученных нами популяциях верблюдов, разводимых в Алматинской области (53 головы), частота аллеля G составила 0,36, тогда как частота аллеля А составила 0,64. Также, выявлено равновесие Харди-Вайнберга, которое было равно 8,589. Уровень полиморфизма был высоким в 1-, 2- и 4-популяциях, составив 100%, тогда как в 3-популяции данный показатель был равен 66,67%. Для изученных популяций были установлены такие статистические показатели, как частота встречаемости генотипов, выявленное и эффективное количество аллелей, разнообразие генов по Nei и др., которые дают популяционно-генетическую характеристику популяций.

Ключевые слова: верблюды, верблюжье молоко, β -казеин, PCR-RFLP анализ, SNP, генетическое разнообразие.

M.D. Amandykova^{1,2*}, A.M. Tlenshiyeva^{1,2}, A.S. Mussayeva², N. Saitou³

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²«Institute of Genetics and Physiology» SC MES RK, Kazakhstan, Almaty

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

* e-mail: makpal_30.01@mail.ru

Genotyping of camels of Almaty region by *CSN2* dairy productivity gene

Camel milk is especially important for its healing properties and high nutritional value. Compared to milk of other farm animals, camel milk, as well as products obtained from it, are easily absorbed by the human body. Thus, the study of genetic diversity and selection of camels according to “preferred” genotypes is considered as a principal part of camel breeding in Kazakhstan.

The β -casein protein makes up the largest part of the casein fraction of camel milk, and the *CSN2* gene encoding it is considered as the main gene for the presence of alleles associated with different levels of expression of casein proteins. Transition g.2126A>G, located in the TATA box region of the *CSN2* gene promoter, is supposed to affect the activity of binding of the transcription factor, which further determines the expression intensity of this gene. In the populations of camels bred in Almaty region studied by us (53 animals), the frequency of the G allele was 0.36, while the frequency of the A allele was 0.64. Also, the Hardy-Weinberg equilibrium was found to be 8.589. The polymorphism was high in 1-, 2- and 4-populations, amounting to 100%, while in the 3-population this indicator was 66.67%. For the studied populations there were identified such statistical indicators as the genotypes occurrence frequency, the observed and effective number of alleles, gene diversity by Nei etc., which give the population genetic characteristics of populations.

Key words: camels, camel milk, β -casein, PCR-RFLP analysis, SNP, genetic diversity.

М.Д. Амандыкова^{1,2*}, А.М. Тленшиева^{1,2}, А.С. Мусаева², Н. Сайто³

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

²ҚР БҒМ ҒК «Генетика және физиология институты», Қазақстан, Алматы қ.

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

* e-mail: makpal_30.01@mail.ru

Алматы облысы түйелерін сүттіліктің CSN2 гені бойынша генотиптеу

Түйе сүтіне оның шипалық қасиеттері мен тағамдық құндылығының жоғары болуына байланысты ерекше мән беріледі. Басқа ауылшаруашылығы жануарларының сүтіне қарағанда, түйе сүті және одан дайындалатын өнімдер адам ағзасына жеңіл сіңіріледі. Осылайша, түйелердің генетикалық әртүрлілігін зерттеу және оларды «жағымды» генотиптер бойынша сұрыптау жұмыстарын жүргізу Қазақстандағы түйе шаруашылығының маңызды құрамдас бөлігі болып табылады.

β -казеин белогы түйе сүтінің казеинді фракциясының басым бөлігін құрайды, ал оны кодтайтын CSN2 гені казеин белоктарының экспрессияның әртүрлі деңгейлерімен байланысты болатын аллельдердің болу-болмауының негізгі гені болып саналады. g.2126A>G транзисиясы CSN2 генінің промоторының ТАТА-бокс аймағында орналасқан және болжам бойынша, осы геннің экспрессиясының қарқындылығын анықтайтын транскрипция факторының байланысу белсенділігіне әсер етеді. Зерттеуге алынған Алматы облысында өсірілетін түйелер популяцияларында (53 бас) G аллелінің жиілігі 0,36 көрсеткішіне ие болды, ал А аллелінің жиілігі 0,64 құрады. Сонымен қатар, Харди-Вайнберг тепе-теңдігі анықталды және оның мәні 8,589 тең болды. Полиморфизм деңгейі 1-, 2- және 4-популяцияларда жоғары болып 100% құраса, 3-популяцияда бұл көрсеткіш 66,67% тең болды. Зерттелген популяцияларда генотиптердің кездесу жиілігі, анықталған және эффективті аллельдер саны, Nei бойынша гендердің әртүрлілігі және т.б. статистикалық көрсеткіштер анықталды. Бұл көрсеткіштер популяцияларға популяциялық-генетикалық сипаттама береді.

Түйін сөздер: түйелер, түйе сүті, β -казеин, PCR-RFLP анализ, SNP, генетикалық әртүрлілік.

Введение

Среди ведущих в мире производителей верблюжьего молока Казахстан занимает лидирующие позиции. В настоящее время поголовье верблюдов в Республике Казахстан составляет 243,2 тыс. голов, увеличившись на 4,1% за 2019-2020 годы [1]. Наиболее острой проблемой верблюдоводства сегодня является повышение продуктивности и племенных качеств животных, а именно, направленное развитие молочного верблюдоводства, которое обусловлено быстрорастущим спросом на верблюжье молоко над фактической возможностью его производства. К основным проблемам, препятствующим увеличению производства верблюжьего молока, которое удовлетворило бы потребности рынков Казахстана и зарубежных стран можно отнести: незначительную молочную продуктивность верблюдов, небольшую численность поголовья направленного молочного типа казахских бактрианов, дромедаров, а также, их гибридов в соотношении с общим поголовьем популяций верблюдов Казахстана. Однако, стоит отметить, что жирность верблюжьего молока, производимого в Республике Казахстан, очень высокая (4,0% и выше) по сравнению с молоком производимым в

других верблюдоразводящих странах (3,2-3,5%). И связано это с тем, что молоко, получаемое от отечественных пород верблюдов, а именно, казахских бактрианов, обладает жирностью 5,0-6,0%, у туркменских одnogорбых верблюдов этот показатель равен 3,2-3,5%, а у гибридов бактриана и дромедара 3,8-5,0%. Верблюжье молоко с таким высоким процентом жирности используется для производства казахской национальной молочной продукции – шубат и кымыран, которые не имеют аналогов в мировой индустрии молочной продуктивности [2].

Казахстанские породы верблюдов, также, отличаются биологическим разнообразием своего генофонда, в сравнении с большинством стран Центральной Азии. Тем не менее, в последнее время наблюдаются некие изменения в породно-популяционном аспекте, которые указывают на генетическую утрату разнообразия верблюдов. Из чего следует, что для сохранения биологического разнообразия верблюдов в стране необходимо провести ряд мер по оценке состояния верблюдоводства в стране, реализовать опись скота, проводить работы по сохранению природных и полученных благодаря возможностям селекции популяций чистопородных верблюдов и их гибридов, при этом учитывая происходящие про-

цессы природного и антропогенного происхождения. Таким образом, особенностью селекционно-генетической работы в верблюдоводстве Казахстана должно являться применение направленных селекционных работ по увеличению поголовья животных с желаемым генотипом, ввиду доступности современных методов [2].

Верблюжье молоко отличается своим специфическим солоноватым вкусом, богат макро и микроэлементами, сочетание аминокислот, содержащихся в нем, считается идеальным для организма человека, что делает его наиболее близким к молоку человека. Считается, что верблюжье молоко обладает лечебными свойствами по отношению к таким заболеваниям, как гепатит С, болезнь Альцгеймера и др., благодаря содержанию в нем антител. Также, имеются исследования направленные на определение роли верблюжьего молока в сокращении симптомов диабета и ряда сердечных заболеваний. В сравнении с молоком крупного рогатого скота, содержание витамина С и содержание железа в молоке верблюдов в несколько раз выше [2].

Схожесть верблюжьего молока с человеческим также объясняется его уникальным составом, в котором более высокую концентрацию составляет β -казеин (65%) и более низкую κ -казеин (3,5%), α 1-казеин (22 %), и α 2-казеин (9,5%) [3]. Из 4 генов кодирующих данные белки, полиморфизм был изучен у *CSN2*, *CSN3* и *CSN1S1*. SNP g.2126A>G в гене *CSN2* и g.1029T>C в гене *CSN3* играют важную роль в изменении консенсусных последовательностей факторов транскрипции (TATA-box и HNF-1, соответственно) [4, 5]. Напротив, для гена *CSN1S2* имеется противоречивая информация о количестве экзонов, и до сих пор не сообщалось о *SNP* для α 2-казеина, несмотря на то, что ряд альтернативных вариантов сплайсинга был уже описан [6]. Однако, в этом отношении полезные данные могут быть получены из анализа генома, сборка которого доступна онлайн для одичавших, двугорбых и одногорбых верблюдов, а также для альпаки. Полная последовательность генома состоит из примерно 2000 *Mbase* для каждого вида, но изолированные геномные последовательности все еще не размещены в общедоступных базах данных и их аннотация почти полностью отсутствует [7]. Это наблюдение подчеркивает необходимость сбора дополнительных данных для аннотации генома верблюда. Кроме того, учитывая тесную связь между генами казеина, оценку взаимосвязи между вариантами казеина и характеристиками молочной продуктивности

можно улучшить, рассматривая гаплотипы казеина вместо отдельных генов [8].

Сообщается, что на распределение кальция и стабильность мицелл казеина влияют разные уровни фосфорилирования β -казеина, поэтому данный белок является важным компонентом верблюжьего молока, играя ключевую роль в определении его питательных и технологических свойств [9]. У верблюдов ген β -казеина (*CSN2*) состоит из 9 экзонов и 7819 нуклеотидов [4]. Несколько исследований у жвачных животных показали связь полиморфизма гена β -казеина с важными с экономической точки зрения характеристиками, такими как удои и состав молока крупного рогатого скота, овец и др. [10, 11]. Ранее, *Pauciullo* с соавторами [4] изучил транзицию g.2126A>G в промоторной области *CSN2* у четырех популяций суданских одногорбых верблюдов. Этот *SNP* 2126A/G расположен на три нуклеотида ниже TATA-бокса и может влиять на связывание РНК-полимеразы к TATA-боксу, подвергая к изменению экспрессию гена [12].

Фракция β -казеина была глубоко изучена у жвачных животных и хорошо охарактеризована как на уровне белка, так и на уровне ДНК. Многие аллели, связанные с разной скоростью синтеза белка, были идентифицированы в соответствующем кодирующем гене (*CSN2*). Сообщалось о по меньшей мере 6 генетических вариантах у овец [13], тогда как по меньшей мере 8 аллелей, соответствующих 7 вариантам β -CN, были идентифицированы у коз [14] и по крайней мере 17 аллелей, соответствующих 12 вариантам β -CN, были идентифицированы у крупного рогатого скота [15, 16, 17]. У верблюдов же β -казеин был подробно охарактеризован на белковом уровне, генетические варианты гена β -казеина были изучены у зарубежных популяций верблюдов [4], тогда как подобная генетическая характеристика отсутствует для популяций казахстанских верблюдов.

В проведенных нами ранее работах по изучению генов молочной продуктивности мы описали 4 популяции верблюдов, разводимых в Алматинской области по гену *CSN3* κ -казеина верблюжьего молока, где дали характеристику относительно распределению желаемого генотипа по этому гену [18]. В данной статье изучена частота распределения генотипов по гену β -казеина *CSN2* и проведен статистический анализ, где определены частота встречаемости генотипов, выявленное и эффективное количество аллелей, разнообразие генов по *Nei* и др.

Материалы и методы

Сбор материалов. Для исследования были собраны образцы крови у 53 отобранных голов из 4 популяций верблюдов, разводимых в Алматинской области. Образцы были собраны в вакуумные ЭДТА пробирки для предотвращения свертывания крови и транспортированы в лабораторию в специальных охлаждаемых контейнерах (4°C–8°C). Образцы хранились в морозильной камере до использования для выделения ДНК.

Выделение геномной ДНК. Выделение геномной ДНК из образцов крови было проведено с использованием набора для экстракции ДНК из крови и тканей «ДНК-сорб-В» (АмплиСенс, Россия), по рекомендованной производителем методике. Выделенные образцы ДНК хранились в морозильнике при температуре -20°C [19].

Определение качества и концентрации ДНК. Для определения качества и концентрации ДНК были использованы ДНК-фотометр (*Biofotometer Plus*, Eppendorf, Германия) и метод агарозного гель-электрофореза [20]. Изучение качества ДНК и проверка на присутствие РНК проводилось в 0,8% агарозном гель-электрофорезе. Визуализация молекул ДНК проводилась с помощью геледокументирующей системы (*Quantum-ST5-1100 Vilber Lourmat*, Франция).

PCR-RFLP-анализ. Амплификация гена *CSN2*, длина которого составляет 659 п.н., с целью определения g.2126A/G SNP проводилась с использованием *Mastercycler* (Eppendorf, Thermo Fisher Scientific, США) в следующих условиях: 95°C (4 мин), 35 циклов при 95°C (60 с), отжиг при 53°C (45 с), 72°C (90 с) и 72°C (10 мин). Типичная смесь для реакции ПЦР (20 µl) состояла из *PCR Master Mix* (Thermo Fisher Scientific, США) и следующей парой праймеров, синтезированных на базе «Института генетики и физиологии»: смысловой праймер 5'-GTT TCT CCA TTA CAG CAT C-3' и антисмысловой праймер 5'-TCA AAT STA TAC AGG CAC TT-3'. Продукты ПЦР проверялись в 1,5% агарозном гель-электрофорезе, для окрашивания использовался бромистый этидий [20]. Далее образцы продуктов ПЦР были использованы для генотипирования животных по g.2126A>G SNP методом *PCR-RFLP*. Рестрикция ПЦР продукта была проведена с использованием эндонуклеазы *HphI* (5'...GGT-GAN₈↓...3') (ThermoScientific, США) при температуре 37°C. Смесь для рестрикции состояла из 5µl ПЦР продукта, 9µl dH₂O, 1,25µl 10×*Buffer B* и 0,75µl рестрикционной эндонуклеазы *HphI*. Продукты рестрикции были проанализированы

с использованием 5% полиакриламидного гель-электрофореза при окрашивании красителем *SYBR Gold Nucleic Acid Gel Stain* (ThermoScientific, США) в 1×TBE буфере. Визуализация результатов проводилась с помощью геледокументирующего оборудования (*Quantum-ST5-1100 Vilber Lourmat*, Франция). Во всех исследованных популяциях были рассчитаны частота аллелей и равновесие Харди-Вайнберга (χ^2). При проведении статистических расчетов для установления таких показателей, как частота встречаемости генотипов, разнообразие генов по *Nei*, выявленное и эффективное количество аллелей и др. была использована программа *POPGENE Software*.

Результаты и их обсуждение

Производство высококачественного молока и переработанных молочных продуктов является важным шагом на пути к успеху развития молочного верблюдоводства [21]. Это исследование было направлено на выявление полиморфизма гена *CSN2* у 4 популяций верблюдов Алматинской области. Результаты анализа *PCR-RFLP* показали наличие трех различных паттернов рестрикции у исследованных животных. Рестрикция продукта ПЦР размером 659 п.н. ферментом *HphI* привело к получению двух фрагментов размером 608 и 51 п.н. для образцов А/А, тогда как фрагмент 608 п.н. дополнительно был разделен на два фрагмента размером 352 и 256 п.н. в случае образцов G/G. Паттерн рестрикции гетерозиготных образцов А/G показал четыре фрагмента (608, 352, 256 и 51 п.н.). На рисунке 1 видно, что в изученных нами популяциях выявлены все 3 генотипа гена *CSN2*: генотип GG был выявлен по фрагментам длиной в 352 п.н., 256 п.н. и 51 п.н.; генотип AA – 608 п.н. и 51 п.н.; гетерозиготный генотип AG – 608, 352, 256 и 51 п.н. Фрагмент длиной в 51 п.н. присутствует во всех трех генотипах, но слабо визуализируется на рисунке из-за очень короткой длины.

По полученным нами результатам исследования можно заметить, что в 4 популяциях верблюдов, разводимых в Алматинской области генотипы по изучаемому гену *CSN2* встречаются неравномерно. Среди 53 протестированных верблюдов генотип А/А встречался с самой высокой частотой – 52,8%, в то время как генотипы G/G и А/G встречались с частотой 24,6% и 22,6%, соответственно (таблица 1). Эти результаты значительно отличаются от данных выявленных *Pauciullo* и его соавторов, которые иден-

тифицировали вышеуказанные генотипы *CSN2* – A/G (51%), A/A (40%) и G/G (9%) – в четырех популяциях суданских верблюдов (Шанбали, Кали, Лахаой и Араби) методом *PCR-RFLP* [4]. По этим данным можно заметить, что по срав-

нению с популяциями суданских верблюдов, в изученных нами популяциях преобладает генотип A/A (52,8%), затем генотип G/G (24,6%), гетерозиготный же генотип имеет наименьшую частоту распределения (A/G).

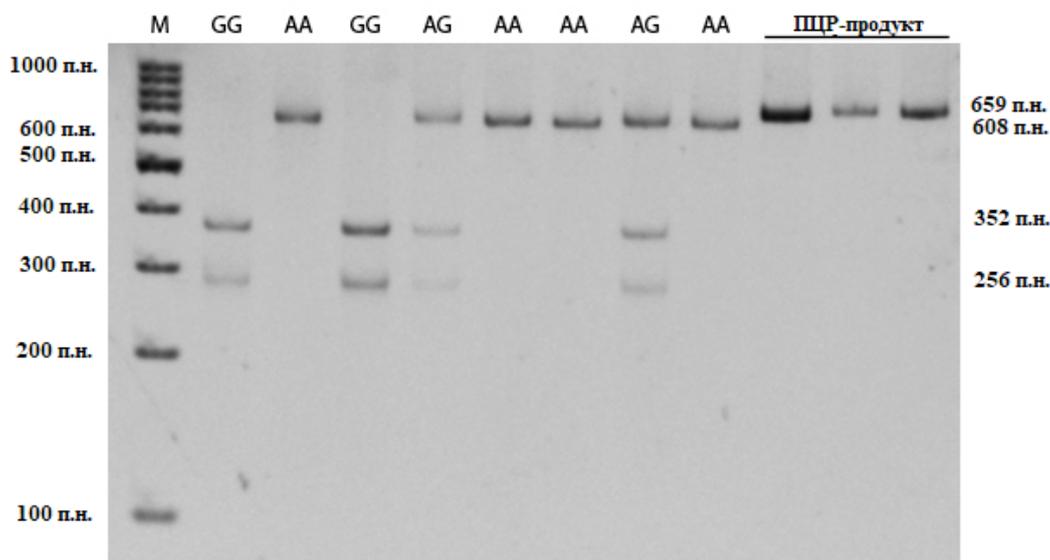


Рисунок 1 – Генотипирование верблюдов Алматинской области по гену *CSN2* g.2126A>G рестриктазой *HphI* ПЦР-ПДРФ методом. М – молекулярный маркер (*ThermoScientific*, США). Описание в тексте.

Таблица 1 – Распределение генотипов по гену *CSN2* и частота аллелей в популяциях верблюдов Алматинской области

Популяции верблюдов	Выявленные генотипы				Частота аллелей, %	
	AA	AG	GG	Всего	A	G
1	5	2	1	8	0,75	0,25
2	4	2	3	9	0,6	0,4
3	18	2	0	20	0,95	0,05
4	1	6	9	16	0,25	0,75
Всего	28	12	13	53	0,64	0,36
$\chi^2 = 8,589 - pJ$						

Что касается отдельных аллелей, показатели частоты аллеля A варьировались от 0,25 до 0,95, показав наивысшее значение в первой популяции и наименьшее в четвертой. Частота встречаемости аллеля G в изученных популяциях колебалась от 0,05 (в третьей популяции) до 0,75 (в четвертой популяции).

Важно отметить, что в первых трех популяциях преобладает генотип A/A, тогда как в 4-популяции больше всего встречается противополож-

ный генотип G/G, что показывает генетическое отличие 4-популяции от других по изучаемому гену. Второй наиболее часто встречающийся генотип в этой же популяции – это гетерозиготный генотип A/G, что также отличает его от других популяций. У животных из 3-популяции гомозиготный генотип G/G вовсе отсутствовал, а гетерозиготный генотип A/G встречался только у 2 из 18 изученных животных, что говорит о низком уровне аллеля G в данной популяции

(0,05). Из этого следует, что данная популяция нуждается в направленной селекционной работе по увеличению аллеля G, для увеличения желательного генотипа A/G и сохранения генетического разнообразия популяции. Напротив, по тем же причинам 4-популяция нуждается в увеличении аллеля A.

Равновесие Харди-Вайнберга по всем 4 популяциям составило 8,589. Стоит отметить, что

на этот показатель могли повлиять ряд таких факторов, как недостаточное количество выборки, ограниченность системы спаривания, т.д. или др.

Как показал статистический анализ, уровень полиморфизма был высоким в 1-, 2- и 4-популяциях составив 100%, тогда как в 3-популяции данный показатель был равен 66,67% (таблица 2).

Таблица 2 – Анализ генетического разнообразия 4 популяций верблюдов на основе изучения полиморфизма гена *CSN2*

Популяции верблюдов	Количество животных	Генотип	Na	Ne	h	I
1	8	AA	2.0000	1.9038	0.4747	0.6677
		AG	2.0000	1.3022	0.2321	0.3939
		GG	2.0000	1.1374	0.1208	0.2394
		Среднее значение	2.0000	1.4478±0.4337	0.2759±0.1810	0.4034±0.2169
2	9	AA	2.0000	1.6119	0.3796	0.5674
		AG	2.0000	1.2631	0.2083	0.3631
		GG	2.0000	1.4279	0.2997	0.4767
		Среднее значение	2.0000	1.4343±0.1745	0.2958±0.0857	0.4690±0.1024
3	20	AA	2.0000	1.7620	0.4325	0.6240
		AG	2.0000	1.1079	0.0974	0.2024
		GG	1.0000	1.0000	0.0000	0.0000
		Среднее значение	1.6667±0.5774	1.2899±0.4123	0.1766±0.2269	0.2755±0.3184
4	16	AA	2.0000	1.0655	0.0615	0.1408
		AG	2.0000	1.4951	0.3311	0.5132
		GG	2.0000	1.8112	0.4479	0.6401
		Среднее значение	2.0000	1.4573±0.3743	0.2802±0.1982	0.4314±0.2595

* Na – наблюдаемое количество аллелей

Ne – Эффективное количество аллелей [22]

h – Разнообразие генов по Nei [23]

I – Информационный индекс Шеннона [24]

Гетерозиготность считается наиболее популярным критерием оценки генетической изменчивости в популяции. Эффективное число аллелей считается мерой генетического разнообразия как отдельных видов, так и популяций, представляя собой функцию от доли полиморфных локусов, числа аллелей на локус и выравнивания частот аллелей. Мера, обратная гомозиготности оценивается эффективным числом аллелей. При одинаковой ча-

стоте этих аллелей в популяции гетерозиготность будет в равной мере с фактической [25]. Среднее значение наблюдаемого количества аллелей (Na), которое показывает фактическое количество аллелей обнаруженное в изучаемых популяциях, было одинаковым (2.0000) во всех изученных нами популяциях по всем генотипам, показав отличие только в третьей популяции (1.6667±0.5774) из-за низкого показателя генотипа GG.

Средний показатель эффективного количества аллелей (N_e) был наивысшим в 1-популяции (1.4478 ± 0.4337) и наименьшим в третьей (1.2899 ± 0.4123). Этот показатель описывает количество аллелей с одинаковой частотой, которое потребуется для достижения той же ожидаемой гетерозиготности, что и в исследуемой популяции. Что касается разнообразия генов, этот показатель имел почти одинаковое значение в 1-, 2- и 4-популяциях, с максимальным значением (0.2958 ± 0.0857) во второй популяции и минимальным (0.1766 ± 0.2269) в третьей. Индекс Шеннона, который показывает меру

разнообразия генов, также был наиболее высоким во второй популяции (0.4690 ± 0.1024) и наименьшим в третьей (0.2755 ± 0.3184).

Далее нами было составлено филогенетическое дерево для оценки родственной близости популяций по разнообразию гена молочной продуктивности *CSN2* (Рисунок 2). По нему можно увидеть, что наиболее близкородственными являются популяции 1 и 2, далее они имеют сходство с популяцией 4, тогда как популяция 3 находится на самой отдаленной от всех популяций ветке филогенетического дерева.

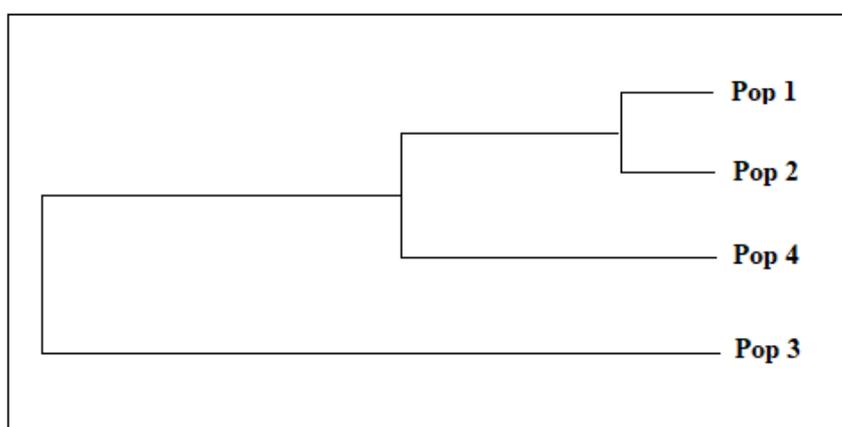


Рисунок 2 – Филогенетическое дерево, построенное на основе стандартной генетической дистанции N_{ei} между четырьмя популяциями верблюдов

Измерение генетических изменений определяется двумя параметрами: генетическая идентичность (I), которая оценивает долю генов, которые идентичны в двух популяциях, и генетическое расстояние (D), которое оценивает долю изменений генов, которые произошли в ходе эволюции двух популяций. Значение I может иметь размах от 0 до 1, что соответствует экстремальным ситуациям, в которых ни один или все гены не идентичны, соответственно; значение D может

находиться в диапазоне от нуля до бесконечности. D может превышать 1, потому что каждый ген может изменяться более одного раза в одной или обеих популяциях, поскольку эволюция продолжается в течение многих поколений [26]. Для проверки достоверности построенного нами филогенетического дерева были использованы данные расчетов генетической идентичности и генетической дистанции между популяциями, представленные ниже в таблице (таблица 3).

Таблица 3 – Оригинальные меры генетической идентичности и генетической дистанции по N_{ei} [21]. Генетическая идентичность (вверху по диагонали) и генетическая дистанция (под диагональю).

Популяция	1	2	3	4
1	****	0.9851	0.9595	0.9042
2	0.0150	****	0.9058	0.9616
3	0.0414	0.0990	****	0.7577
4	0.1007	0.0391	0.2774	****

К примеру, генетическая идентичность 1- и 2- популяций равна 0,9851, а генетическая дистанция равна 0,015, что доказывает их близкородственную связь, показанную в филогенетическом дереве. Далее, наиболее родственными являются 2- и 4-популяция с генетической идентичностью 0,9616; затем 1- и 3- с генетической идентичностью 0,9595. Генетическая идентичность 1- и 4-, а также 2- и 3-популяций имеют примерно одинаковое значение (0,9042 и 0,9058). Напротив, самыми отдаленными друг от друга популяциями являются 3- и 4-популяции, так как генетическая идентичность этих популяций равна 0,7577, а генетическая дистанция составляет 0,2774.

Заключение

Выявление генетического полиморфизма по генам молочной продуктивности верблюдов является наиболее полезным методом направленной селекции для улучшения количе-

ственных и качественных показателей молока. Полученные нами данные могут быть использованы для описания генетического потенциала изученных популяций по гену молочной продуктивности *CSN2*. Результаты дают возможность предоставить рекомендации верблюдоводческим хозяйствам по проведению дальнейших селекционных работ внутри популяций. Также, эти данные могут послужить полезным материалом для изучения генетического разнообразия других популяций верблюдов по гену *CSN2*. Дальнейшие работы будут направлены на изучение полиморфизма гена *CSN1S1*, кодирующего белок казеин- α -s1, на проведение сравнительного анализа и характеристики 4 популяций по всем изученным нами генам белков казеина.

Конфликт интересов

Все авторы ознакомлены с содержанием статьи и не имеют конфликта интересов

Литература

- 1 https://forbes.kz/news/2020/06/12/newsid_227295. В Казахстане увеличилось поголовье скота.
- 2 <https://www.kazportal.kz/verblyudovodstvo-v-kazahstane/>. Верблюдоводство в Казахстане.
- 3 Berhe T., Seifu E., Ipsen R., Kurtu M.Y., Hansen, E.B. Processing challenges and opportunities of camel dairy products // *Int. J. Food Sci.* – 2017. – Vol. 2. – P. 1–8.
- 4 Pauciuolo A., Giambra I., Iannuzzi L., Erhardt G. The β -casein in camels: molecular characterization of the *CSN2* gene, promoter analysis and genetic variability // *Gene.* – 2014. – Vol. 547. – P. 159–168.
- 5 Pauciuolo A., Shuiiep 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.
- 6 Ryskaliyeva A., Henry C., Miranda G., Faye B., Konuspayeva G., Martin P. Alternative splicing events expand molecular diversity of camel *CSN1S2* increasing its ability to generate potentially bioactive peptides // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9. – P. 5243.
- 7 Avila F., Baily M.P., Perelman P., Das P.J., Pontius J., Chowdhary R. et al. A comprehensive whole-genome integrated cytogenetic map for the alpaca (*Lama pacos*) // *Cytogenet. Genome Res.* – 2014a. – Vol. 144. – P. 196–207.
- 8 Pauciuolo A., Shuiiep 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.
- 9 Amigo L., Recio I., Ramos M. Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on technological properties of milk – a review // *Int. Dairy J.* – 2000. – Vol. 10. – P. 135–149.
- 10 Soyudal B., Ardicli S., Samli H., Dincel D., Balci F. Association of polymorphisms in the *CSN2*, *CSN3*, *LGB* and *LALBA* genes with milk production traits in Holstein cows raised in Turkey // *J. Hellenic Vet. Med. Soc.* – 2018. – Vol. 69. – P. 1271–1282.
- 11 Corral J., Padilla J., Izquierdo M. Associations between milk protein genetic polymorphisms and milk production traits in Merino sheep breed // *Livest. Sci.* – 2010. – V. 129. – P. 73–79.
- 12 Lee S.M., Kim H.M., Moon S.J., Kang M.J. Cloning and molecular characterization of porcine β -casein gene (*CNS2*) // *Asian-Austral. J. Anim.* – 2012. – V. 25. – P. 421–427.
- 13 Chessa S., Rignanese D., Berbenni M., Ceriotti G., Martini M., Pagnacco G., Caroli A. New genetic polymorphisms within ovine β - and α 2-caseins // *Small Ruminant Res.* – 2010. – Vol. 88. – P. 84–88.
- 14 Cosenza G., Pauciuolo A., Colimoro L., Mancusi A., Rando A., Di Bernardino D., Ramunno L. An SNP in the goat *CSN2* promoter region is associated with the absence of β -casein in milk // *Anim. Genet.* – 2007. – Vol. 38. – P. 655–658.
- 15 Caroli A.M., Chessa S., Erhardt G.J. Milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition // *J. Dairy Sci.* – 2009. – Vol. 92. – P. 5335–5352.
- 16 Suteu M., Vlaic A., Daraban S.V. Characterization of a novel porcine *CSN2* polymorphism and its distribution in five European breeds // *Animals.* – 2019. – Vol. 9. – No 7. – P. 419.

- 17 Novier A.M., Ramadan Sh. I. Association of β -casein gene polymorphism with milk composition traits of Egyptian Maghrebi camels (*Camelus dromedarius*) // Arch. Anim. Breed. – 2020. – Vol. 63. – P. 493–500.
- 18 Амандыкова М.Д., Досыбаев К.Ж., Байбагысов А.М., Литус И.А., Икласов М.К., Мусаева А.С., Бекманов Б.О., Сайто Н. Частота распределения гена *CSN3* у верблюдов Алматинской области // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2019. – Т. 81, № 4. – С. 34-42.
- 19 <https://docplayer.ru/63720103-Instrukciya-dnk-sorb-s-m.html>. Инструкция по применению комплекта реагентов для экстракции ДНК из биологического материала ДНК-сорб-С-М.
- 20 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 Едилбайской породы // Известия НАН РК. – 2015. № 3. – С. 28-33.
- 21 Nagy P., Fabri Zs.N., Varga L., Reiczigel J., Juhasz, J. Effect of genetic and nongenetic factors on chemical composition of individual milk samples from dromedary camels (*Camelus dromedarius*) under intensive management // J. Dairy Sci. – 2017. – V. 100. – P. 8680–8693.
- 22 Motoo Kimura, James F. Crow The number of alleles that can be maintained in a finite population // Genetics. – 1964. – Vol. 49, No 4. – P. 725-738.
- 23 Masatoshi Nei Analysis of gene diversity in subdivided populations // PNAS. – 1973. – V. 70. – No 12., P. 3321-3323.
- 24 Lewontin R.C. The Apportionment of Human Diversity. In: Dobzhansky T., Hecht M.K., Steere W.C. (eds) // Evolutionary Biology. Springer. – 1972.
- 25 Сметенов И.Т., Акишев Ж.Д., Алтыбаева Н.А., Мухитдинов Н.М., Бисенбаев А.К. Оценка генетического полиморфизма популяции *Berberis iliensis* Или-Балхашского региона на основе ISSR-маркеров // Доклады Национальной Академии наук Республики Казахстан. – 2012. – № 4. – С. 49-57.
- 26 <https://www.britannica.com/science/evolution-scientific-theory/Genetic-differentiation-during-speciation#ref311720>. Genetic differentiation during speciation.

References

- 1 Amandykova M.D., Dossybayev K.Zh., Baibagysov A.M., Litus I.A., Iklasov M.K., Mussayeva A.S., Bekmanov B.O., Saitou N. (2019) Chastota raspredeleniya gena *CSN3* u verbluydov Almatinskoy oblasti [CSN3 gene distribution frequency in camels of Almaty region]. Вестник КазНУ. Серия биологическая, vol. 81, no 4, pp. 34-42.
- 2 Amigo L., Recio I., Ramos M. (2000) Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on technological properties of milk – a review. Int. Dairy J., vol. 10., pp. 135–149.
- 3 Avila F., Baily M.P., Perelman P., Das P.J., Pontius J., Chowdhary R. et al. (2014a) A comprehensive whole-genome integrated cytogenetic map for the alpaca (*Lama pacos*). Cytogenet. Genome Res., vol. 144, pp. 196–207.
- 4 Bekmanov B.O., Amirgaliyeva A.S., Mусаева А.С., Оразымбетова З.С., Досыбаев К.Ж., Хусаинова Э.М., Жапбасов Р.Ж., Жомартов А.М., Тулекей М.Д. (2015) Молекулярно-генетический анализ овец Едилбайской породы [Molecular genetic analysis of sheep of Edilbay breed]. Izvestiya Nacionalnoy akademii nauk Respubliki Kazakhstan, no. 3, pp. 28-33.
- 5 Berhe T., Seifu E., Ipsen R., Kurtu M.Y., Hansen, E.B. (2017) Processing challenges and opportunities of camel dairy products. Int. J. Food Sci., vol. 2, pp. 1–8.
- 6 Caroli A.M., Chessa S., Erhardt G.J. (2009) Milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. J. Dairy Sci., vol. 92., pp. 5335-5352.
- 7 Chessa S., Rignanese D., Berbenni M., Ceriotti G., Martini M., Pagnacco G., Caroli A. (2010) New genetic polymorphisms within ovine β - and *as2*-caseins. Small Ruminant Res., vol. 88, pp. 84-88.
- 8 Corral J., Padilla J., Izquierdo M. (2010) Associations between milk protein genetic polymorphisms and milk production traits in Merino sheep breed. Livest. Sci., vol. 129, pp. 73–79.
- 9 Cosenza G., Pauciullo A., Colimoro L., Mancusi A., Rando A., Di Bernardino D., Ramunno L. (2007) An SNP in the goat *CSN2* promoter region is associated with the absence of β -casein in milk. Anim. Genet., vol. 38, pp. 655-658.
- 10 https://forbes.kz/news/2020/06/12/newsid_227295. V Kazakhstane uvelichilos pogolovie skota [Livestock increased in Kazakhstan].
- 11 <https://www.kazportal.kz/verbluydovodstvo-v-kazahstane/>. Verbluydovodstvo v Kazakhstane [Camel breeding in Kazakhstan].
- 12 <https://docplayer.ru/63720103-Instrukciya-dnk-sorb-s-m.html>. Instrukciya po primeneniyu komplekta reagentov dlya ekstrakcii DNK iz biologicheskogo materiyala DNK-sorb-S-M [Instructions for the use of a reagent kit for DNA extraction from biological material DNA-sorb-C-M].
- 13 <https://www.britannica.com/science/evolution-scientific-theory/Genetic-differentiation-during-speciation#ref311720>. Genetic differentiation during speciation.
- 14 Lee S.M., Kim H.M., Moon S.J., Kang M.J. (2012) Cloning and molecular characterization of porcine β -casein gene (*CNS2*). Asian-Austral. J. Anim., vol. 25, pp. 421–427.
- 15 Lewontin R.C. (1972) The Apportionment of Human Diversity. In: Dobzhansky T., Hecht M.K., Steere W.C. (eds). Evolutionary Biology. Springer.

- 16 Masatoshi Nei (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. PNAS, vol. 70, no 12., pp. 3321-3323.
- 17 Motoo Kimura, James F. Crow (1964) The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics, vol. 49, no 4, pp. 725-738.
- 18 Nagy P., Fabri Zs.N., Varga L., Reiczigel J., Juhasz, J. (2017) Effect of genetic and nongenetic factors on chemical composition of individual milk samples from dromedary camels (*Camelus dromedarius*) under intensive management. J. Dairy Sci., vol. 100, pp. 8680–8693.
- 19 Novier A.M., Ramadan Sh. I. (2020) Association of β -casein gene polymorphism with milk composition traits of Egyptian Maghrebi camels (*Camelus dromedarius*). Arch. Anim. Breed., vol. 63, pp. 493–500.
- 20 Pauciullo A., Giambra I., Iannuzzi L., Erhardt G. (2014) The β -casein in camels: molecular characterization of the CSN2 gene, promoter analysis and genetic variability. Gene., vol. 547, pp. 159–168.
- 21 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.
- 22 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.
- 23 Ryskaliyeva A., Henry C., Miranda G., Faye B., Konuspayeva G., Martin P. (2019) Alternative splicing events expand molecular diversity of camel CSN1S2 increasing its ability to generate potentially bioactive peptides. Sci. Rep., vol. 9, pp. 5243.
- 24 Smekenov I.T., Akishev Zh.D., Altybayeva N.A., Mukhitdinov N.M., Bisenbayev A.K. (2012) Ocenka geneticheskogo polimorfizma populacii *Berberis iliensis* Ili-Balkhashskogo regiona na osnove ISSR-markerov [Analysis of genetic polymorphism of endemic *Berberis iliensis* population in Ili-Balkhash region of Kazakhstan by ISSR-PCR]. Doklady Nacionalnoy Akademii nauk Respubliki Kazakhstan, no 4, pp. 49-57.
- 25 Soyudal B., Ardicli S., Samli H., Dincel D., Balci F. (2018) Association of polymorphisms in the CSN2, CSN3, LGB and LALBA genes with milk production traits in Holstein cows raised in Turkey. J. Hellenic Vet. Med. Soc., vol. 69, pp. 1271–1282.
- 26 Suteu M., Vlaic A., Daraban S.V. (2019) Characterization of a novel porcine CSN2 polymorphism and its distribution in five European breeds. Animals., vol. 9, no 7, pp. 419.