

6 Brown J. W. S. and Simpson C. G. *Splice site selection in plant pre-mRNA splicing*. // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 1998.v.49: 77-95 .

7 Punchapat S., Norene B. and Hugh S. M. *A plant signal peptide–hepatitis B surface antigen fusion protein with enhanced stability and immunogenicity expressed in plant cells* // *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. v.100 (5). 2209–2214.

8 Akbergenov R., Zhanybekova S., Polimbetova N., Madin K., Hohn T., Iskakov B. *Complementary interaction between the central domain of 18S rRNA and the 5' untranslated region of mRNA enhances translation efficiency in plants* // In: "Cell-Free Protein Expression", Ed. J.R. Swartz, Springer-Verlag. - 2003. - P. 199-208.

Summary

The latent signals of splice site according to rules of processing of pre-mRNA in nucleus of plant cells was revealed. Optimal vector for cloning cDNA of HAFP and computer modeling of recombinant constructions design containing his-tag on the C - end of protein has been carried out. Amplification cDNA of HAFP by RT – PCR has been carried out.

Тұжырым

Өсімдік қдлеткасының ядросындағы пре-мРНҚ молекуласының процессингі заңдылығы негізінде жасырын сплайсинг сигналдары айқындалды. Адам альфа-фетопротеин генінің қДНҚ-сын клондауға қажет оптимальды вектор таңдалыны, белоктың С – соңында гистидинтің таңба бар (His-tag) рекомбинантты конструкция компьютерлік жолмен сипатталды. Адам альфа-фетопротеин қДНҚ – сы кері транскрипция және тізбекті полимеразалық реакция арқылы бөлініп алынды.

Байқошқарова С.Б.

ДЕНЕДЕН ТЫС ҰРЫҚТАНДЫРУ БАҒДАРЛАМАСЫНДА АНЕУПЛОИДТЫ АБЕРРАЦИЯЛАРДЫ АНЫҚТАУ

(«Экомед» адам ағзасынан тыс ұрықтандыру емханасы)

FISH-диагностиканы жүргізу барысында анықталған анеуплоидиялардың жиілігі мен кейбір физиологиялық факторлар арасында тәуелділік бар екендігі белгілі болды, сонымен қатар олардың жиілігіне репродуктивтік анамнездің әсер ететіндігі анықталды.

1967 жылы R.Edwards және R.Gardner клиникалық тәжірибеде бірінші рет имплантацияға дейінгі генетикалық диагностика (ИГД) әдісін қоян эмбрионының жынысын анықтау үшін қолданды [1]. Сол кездің өзінде ИГД-ны адамда генетикалық аурулардың тұқым қуалауын шектеу үшін пайдалану ойлары туындаған болатын. 80 ж. аяғында осы әдісті тұқым қуалаушылық ауруларды өзінің ұрпағына берілу қаупі жоғары ерлі-зайыпты жұптарға көмектесу мақсатында қолданылды [2,3,4].

90 ж. басында қарай, жеке жасушалардағы мутацияларды анықтауға мүмкіндік беретін, полимеразды тізбектік реакция (ПТР) әдісі ойлап табылды [5]. 1990 ж. бірінші болып адамға ПТР әдісін имплантацияға дейінгі генетикалық диагностика жүргізу мақсатында А.Handyside және оның әріптестері қолданған. Олар Х-хромосомасымен тіркескен аурулары бар ерлі-зайыпты жұптардың эмбриондарының жынысын анықтау мақсатында, ПТР әдісінің негізінде Y-хромосомасын сипаттайтын нуклеотидтердің спецификалық тізбектерін зерттеген болатын [6]. Бірақ эмбриондарды анықтау барысында жалған диагноз қою қаупі бар болғандықтан ПТР-дан біртіндеп in situ жағдайындағы флуоресценттік гибридизация (FISH) жасау әдісіне ауыса бастады. Бұл әдістің артықшылығы Х және Y-хромосомаларын бір уақытта анықтауға болады. Осының арқасында эмбриондардың тек жынысын анықтаумен ғана емес, сонымен қатар жыныс хромосомаларының анеуплоидиясын да анықтауға мүмкіншілік туады [7].

Бүгінгі күні генетикалық аномалиялары бар балаларды туу қаупі бар, әйелдер тобын анықтайтын скринингтік бағдарламалардың елеулі дәрежеде жетілдірілуіне қарамастан, жаңа жағдайлар мәселелердің жаңа шешімін талап етеді. Бедеулікке шалдыққан ерлі-зайыпты жұптарға ИГД жүргізу арқылы, қосалқы репродуктивтік технологиялардың көмегімен олардың емделуін елеулі дәрежеде жоғарлатуға болады. Сонымен қатар тұқым қуалайтын аурулары бар балалардың туылуын шектеуге мүмкіндік береді [8,9]. Инвазивті пренатальдық диагностика әдістерінің көмегімен ұрықтың генетикалық ауруларын анықтағанда, жүктілікті тоқтату қажеттілігі пайда болуы мүмкін. Ал имплантацияға дейінгі генетикалық диагностика әдісі бастапқыдан сау эмбриондармен жүкті болуды көздейді.

ИГД жүргізуге көрсетілетін жағдайлар:

1. Хромосомалық немесе гендік аурулары бар болса, немесе осы аурулар бойынша тасымалдаушы болса, генетикалық патологиясы бар бала туу қауіпін азайту мақсатында:
 - Клайнфельтер, Шершевский-Тернер және т.б. синдромдары бойынша мозаицизм болса;
 - Кариотипте Робертсондық транслокациялар, маркерлік хромосомалар және т.б. қайтақұрылымдар болған жағдайда;
 - муковисцидоз, гемофилия, Гентингтон ауруы сияқты және т.б. моногендік аурулармен ауыратын жағдайда немесе осы аурулар бойынша тасымалдаушы болса.
2. Кариотиптерінде хромосомалар санының аномалиялары бар эмбриондарды «жіктеу» көмегімен, денеден тыс ұрықтандыру (ДТҰ) бағдарламасының тиімділігін арттыру мақсатында:
 - әйелдердің жасы 35тен жоғары болғанда;
 - Нашар ДТҰ болжамы бар әйелдерге (жүктіліктің ерте мерзімдерінде үш немесе одан да көп өздігінен болған түсіктер болса);
 - үш немесе одан да көп сәтсіз аяқталған ДТҰ/ИКСИ бағдарламалары болса;
 - еркектердің сперматогенез үрдісінде ауыр бұзылыстар болса [10,11].

Жоғарыда келтірілген генетикалық көрсетілімдер тізімі ИГД әдісінің жетілдірілуіне және оның кең мүмкіндіктеріне байланысты жыл сайын толықтырылып отыратыны анық.

Зерттағары және әдістері

Біздің жүргізілген зерттеулерімізде анеуплоидтық абберацияларды FISH әдісінің көмегімен анықтадық, ол үшін 13, 18, 21, X, Y хромосомаларын анықтауға арналған «Vysis» фирмасының Multivysion PGT ДНҚ-зондтарын қолдандық. Зерттеу жұмысына ДТҰ (денеден тыс ұрықтандыру) және ИГД (имплантацияға дейінгі генетикалық диагностика) бағдарламаларынан өткен 54 әйел іріктелініп алынды. Біздер өз тәжірибелерімізде жас көрсеткіштеріне тәуелсіз әйелдерді репродуктивтік статусы бойынша үш топқа (донорлық ооциттер қолданған әйелдер тобы, бедеу әйелдер тобы, еркектік бедеулігі бар әйелдер тобы, соңғы топта әйелдерінің репродуктивтік жүйесі қалыпты болған) бөлдік. Бірінші кестеде зерттеуге алынған әйелдерге жалпы сипаттама берілген. Эмбриондардың ИГД жасау әдістемесі екі сатыдан тұрады – бластомер биопсиясы және бластомердің фиксацияланған ядросын молекулалық-цитогенетикалық FISH-әдісімен зерттеу.

Кесте 1 - ДТҰ және ИГД бағдарламаларынан өткен әйелдерге жалпы сипаттама

Көрсеткіштер	Донорлық бағдарламалар	Бедеу әйелдер тобы	Еркектік бедеулігі бар әйелдер тобы
Әйелдер саны	23	17	14
Әйелдердің орташа жасы	25,4	37,5	33,2
ДТҰ циклдерінің саны	25	20	17
Алынған эмбриондар саны	298	119	96

Әдетте үшінші тәулікте лабораториялық жағдайда әрбір эмбрионнан Narishige фирмасының микроманипуляторларының көмегімен бір бластомер алынады. Ядро фиксация жасалғаннан кейін, заттық шыныдағы орнын алмазды қаламның көмегімен белгілейміз. Әрі қарай ерлі-зайыпты жұптың анамнезіне байланысты қажетті хромосомаларға FISH-диагностика жүргізіледі. Осы FISH-диагностиканың нәтижелері бойынша әйелдің жатыр қуысына 1-2 генетикалық жағынан «сау» деп танылған эмбриондар тасымалданады.

Нәтижелері және оларды талдау

ДТҰ бағдарламаларында алынған эмбриондардың генетикалық бұзылыстарын анықтау мақсатында жүргізілген зерттеудің нәтижелері бойынша әйелдердің үш тобында келесідей ажырау байқалған. Бірінші және екінші топтың әйелдерінде хромосомдық абберациялардың жиілігі ұқсас болды, сәйкесінше оларда эмбриондардың 45,6 және 49,8% әртүрлі аномалиялар болған, ал үшінші топта ол көрсеткіш 37,8% құрады. Ал анеуплоидтық бұзылыстар арасында екінші топта трисомиялар басым болса, бірінші топта моносомиялар мен трисомиялардың жиілігі шамамен бір деңгейде болды. Жүргізілген зерттеудің нәтижелері бірінші кестеде көрсетілген. Біздің болжамымыз бойынша, мұндай нәтижелер келесідей себептермен түсіндірілуі мүмкін. Екінші топта анеуплоидиялардың басым кездесуі бұл топтағы әйелдердің біріншіден жасына (бұл топтағы әйелдердің орташа жасы 37,5

құрады) байланысты болса, ал екінші жағынан бедеулігі бар әйелдерде өзіндік эндогендік бұзылыстары бар екендігі жоққа шығарылмайды. Соның ішінде атап айтқанда олардың кариотипінде әртүрлі транслокациялар болуы мүмкін, өйкені бұл топтағы әйелдерде бірнеше сәтсіз аяқталған ДТҰ циклдарының болуы олардың кариотиптерінің қалыпты екендігінде күмән туғызады. Бұл нәтижелер ДТҰ+ИГД бағдарламасынан өтетін ерлі-зайыпты жұптардың перифериялық қанындағы лимфоциттерге цитогенетикалық зерттеу жүргізу қажеттігі бар екендігін көрсетеді. Ал бірінші топта анеуплоидиялардың мұндай жоғары деңгейдегі көрсеткіштері жасқа байланысы жоқ екені анық (бұл топтағы әйелдердің орташа жасы 25,4 құрады). Біздің болжамымыз бойынша донорлық бағдарламалардағы аналық жыныс бездерінің экзогендік гормональдық жүктеуге шамадан тыс жауап беруі нәтижесінде алынатын көп мөлшердегі ооциттердің сапасы төмен болуы мүмкін. Себебі аналық жыныс бездерінің мұндай гормональдық жүктеуге физиологиялық жағынан тән емес асқын жауабы ооциттердің қалыпты пісіп жетілуіне қажетті жағдайлардың орындалуына кедергі жасайды, сонымен қатар донор әйелдердің бірнеше рет гормональдық жүктеуден өтуі оогенез үрдісінің қалыпты орындалуына теріс әсер беруі мүмкін. Нәтижесінде, ДТҰ бағдарламаларында алынатын ооциттердегі генетикалық аномалиялардың пайда болуына әкелетін жағымсыз жағдайлар туындауы мүмкін. Осы орайда донорлық ооциттер қолданылатын бағдарламаларға қазіргі кездегі қалыптасқан көзқарасты өзгерту керек.

Сонымен бірге эмбриондардың бластоцистаға айналу көрсеткіші бойынша жүргізілген зерттеу жұмыстарынан алынған мәліметтер келесідей нәтижелер көрсетті. Эуплоидты эмбриондар арасында аталған көрсеткіштің деңгейінің (60,9%; 55,4%; 63,6%) анеуплоидты эмбриондармен салыстырғанда (сәйкесінше 39,1%; 44,6%; 36,4%) жоғары болғанымен, анеуплоидты эмбриондар арасында қалыпты бластоцисталардың пайда болуы эмбриондардың морфологиялық көрсеткіштерінің, генетикалық құрамына сай келмейтініне дәлел бола алады.

Кесте 2 - Әртүрлі әйелдер тобындағы жүргізілген FISH-әдісінің нәтижелері

Көрсеткіштер	Донорлық бағдарламалар	Бедеу әйелдер тобы	Еркектік бедеулігі бар әйелдер тобы
Биопсия жүргізілген эмбриондар саны	282	110	89
FISH-әдісі бойынша анықталған эмбриондар саны	265	101	78
Зерттелген хромосомалар бойынша қалыпты эмбриондар саны	54,4%	50,2%	62,2%
Зерттелген хромосомалар бойынша аномальды эмбриондар саны	45,6%	49,8%	37,8%
Бластоцистаға айналған эмбриондар саны:	60,9%	55,4%	63,6%
• эуплоидтылар арасында	39,1%	44,6%	36,4%
• анеуплоидтылар арасында			

ДТҰ бағдарламасының аясында жүргізілген зерттеу жұмысында алынған мәліметтер негізінде келесідей қорытындылар жасауға болады:

1. Әйелдердің жасы мен анеуплоидиялар арасында белгілі бір дәрежеде оң корреляция болатындығы анықталды. Осыған орай ДТҰ бағдарламаларынан өтіп жатқан ерлі-зайыпты жұптардың кариотипіне зерттеу жүргізу ұсынылды.
2. FISH-әдісінің көмегімен анықталатын анеуплоидиялардың жиілігіне әйелдердің репродуктивтік статусы әсер ететіндігі анықталды. Донорлық ооциттер қолданылатын бағдарламаларда ИГД әдісін жүргізу қажеттігі бар екені айтылды.
3. ДТҰ бағдарламаларында алынатын эмбриондардың морфологиялық көрсеткіштері оның генетикалық жиынтығының қалыпты екеніне кепіл бола алмайтыны дәлелденді.

Әдебиеттер

- 1 Edwards R., Gardner R. Sexing of five rabbit blastocysts // *Nature*. 1967. Vol. 214. P. 567-577.
- 2 Гоголевская И.К. Преимплантационная генетическая диагностика: современное состояние и последние научные открытия. «Проблемы репродукции», № 1-1999, с.19-26
- 3 Под ред. Кулакова В. И., Леонова Б.В. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия. М., МИА, 2000, глава 9, с. 230-233
- 4 Элдер К., Дэйл Б. Экстракорпоральное оплодотворение. М., Медпресс, 2008, с. 265-289
- 5 Saiki R. et al. Enzymatic amplification of β -globin genetic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia // *Science*. 1985. Vol. 230. P. 1350-1354.
- 6 Handyside A.H. et al. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990; 344: 768-770.
- 7 Harper J.C. et al. Mosaicism of autosomes and sex chromosomes in morphologically normal, monospermic preimplantation human embryos. *Prenat Diagn* 1995; 15: 41-49.
- 8 Gianaroli Luca. Preimplantation genetic diagnosis: polar body and embryo biopsy // *Human Reproduction*, 2000. – Vol. 15 (Suppl. 4). – P. 69-75
- 9 Steptoe P.C., Edwards R.G. Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 2: 366.
- 10 Scriven P.N., Flinter F.A., Braude P.R., Mackie Ogilvie C. Robertsonian translocations-reproductive risks and indications for preimplantation genetic diagnosis // *Human Reproduction*, 2001. – Vol. 16. – N 11. – P. 2267-2273.
- 11 Stern C., Pertile M., Norris H., Hale L., G. Baker H.W. Chromosome Translocations I couples with in-vitro fertilization implantation failure // *Human Reproduction*. 1999.– V. 14. – N 8. – P. 2097-2101.

Резюме

При проведении FISH-диагностики была выявлена, зависимость частоты появления анеуплоидий от некоторых физиологических факторов, а также было показано, что репродуктивный анамнез женщины может влиять на их встречаемость.

Summary

During carrying out FISH-diagnostics has been established dependence of frequency occurrence aneuploidies from some physiological factors, and also has been shown, that the reproductive anamnesis of the woman can influence their occurrence.

УДК 575.17: 599.9

Кирикбаева М.С.

ОСНОВНЫЕ ГЕНЕТИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕЛЬСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

(Научный институт акушерства, гинекологии и перинатологии МЗ РК)

Проведено генетико-демографическое исследование населения 24 сельских округов Жамбылского района по данным брачных записей, заключенных с 2005-2008 гг. Населению сельских округов Жамбылского района характеризуется значительным преобладанием коренного населения – казахами (в среднем по району 79,14%). Среднепопуляционный возраст вступления в брак по сельским округам для мужчин составил $27,25 \pm 0,15$ и варьировался от $26,26 \pm 0,60$ до $29,39 \pm 1,49$, для женщин $23,51 \pm 0,12$ и варьировался от $22,80 \pm 0,95$ до $24,90 \pm 1,21$. По половозрастной структуре популяция относится к растущему типу населения.

Алматинская область занимает площадь, равную 224 тыс.кв.км. Территория включает разнообразные ландшафты. Именно предгорная полоса является важной частью Южного Казахстана в экономическом отношении: там сосредоточено большинство населения. По административному делению состоит из 16 районов. Для характеристики генетико-демографических процессов и структуры генофонда сельского населения Казахстана для обследования был выбран Жамбылский район, расположенный в юго-западной части Алматинской области Республики Казахстан, вблизи от мегаполиса (г. Алматы). Район образован в 1928 году. Районный центр Жамбылского района с. Узынагаш и административное деление состоит из 24 сельских округов. Жамбылский район занимает