

«Сейфуллин оқулары – 18: « Жастар және ғылым – болашаққа көзқарас» халықаралық ғылыми -практикалық конференция материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 18: « Молодежь и наука – взгляд в будущее» - 2022.- Т.І, Ч.ІІІ. - Б. 100-103

ІРІ ҚАРА МАЛЫНДА ЖАСЫРЫН ГЕНЕТИКАЛЫҚ КЕМТАРЛЫҚТАРДЫҢ ТАРАЛУЫ ЖӘНЕ ЗИЯНДЫ МУТАЦИЯЛАРДЫ ЭЛИМИНАЦИЯ ЖАСАУ ҮРДІСІН БАСҚАРУ

*Бименова Ж. Ж., PhD доктор, қауымдастырылған профессор
Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы қаласы,*

Сиырлардағы сүт өнімділігінің артуы өлімге әкелетін рецессивті (loss-of-function - LOF) мутацияның өсуімен қатар жүреді және ғалымдардың зерттеулерінің нәтижелері бойынша зиянды жасырын мутацияның гетерозиготалы тасымалдаушыларын жоюға бағытталған жұмыс тиімсіз болып шықты. Асыл тұқымды малдың генетикалық ақауларын тасымалдау кезінде 100% генетикалық скрининг әдісін қолдану экономикалық тиімді емес, зерттелетін жануарлардың ең аз рұқсат етілген үлесі жалпы жануарлардың 20%-нан аспауы тиіс екендігі анықталды. Осылайша, бүгінгі таңда өлімге әкелетін мутациялардың пайда болуын азайту стратегиясы зиянды өлімге әкелетін мутацияларды жою процесін басқаруға бағытталуы керек, жануарларды ішінара тестілеу арқылы және гомозиготалы мутация тасымалдаушылары бар жануарларды алуға жол бермеу керек [1].

Сиырлардағы ұрықтандырғыш гаплотиптерін анықтау, өлімге әкелетін тұқым қуалайтын аурулармен байланысты голштейн тұқымды ірі қара мал популяциялары генетикалық скрининг жүйесіндегі маңызды элементтердің бірі болып табылады. Соңғы уақытта ұрықтандырғыш гаплотиптері ірі қара малдың барлық дерлік тұқымдарында анықталды: голштейн, джерсей, бурыл швиц, монбельард, айршир, симментал тұқымдары. Генетикалық мониторинг нәтижелерін талдау көрсеткендей, қазіргі уақытта голштейн тұқымында келесі ұрықтандырғыш гаплотиптері тіркелгенін: HCD, HH0, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HHB, HHC, HHD, осы кемтарлықтар сиырдағы буаздықтың әртүрлі кезеңдерінде эмбрионалдық өлімдік және ерте постэмбрионалдық өлімге әкелетіні белгілі [2].

Жасырын генетикалық ақаулардың кең таралуының алғышарты келесі факторлар болып табылады: жасырын тасымалдаушылары бар бұқаларды қолдан ұрықтандыруды - қарқынды пайдалану, жасырын мутацияның пайда болуынан бастап мутацияны анықтауға дейінгі ұзақ уақыт кезеңі, ұрықтандырғыш гаплотиптерінің гендік аллельдерінің сүт өнімділігі көрсеткішімен ассоциативті байланысы болып табылады. Зерттеулер көрсеткендей, Ресей Федерациясында мал басын өсіру үшін пайдаланылатын асыл тұқымды бұқалардың 5%-дан астамы ұрықтандырғыш гаплотиптерінің жасырын тасымалдаушылары болып табылады [2]. Осыған бағыттағы зерттеулерді Қазақстандық ғалымдар да жүргізген және ол жұмыстардың

нәтижесіне сәйкес Алматы облысы шаруашылықтарында голштейн тұқымды сиырларда ұрықтандырғыш гаплотипінің HCD - холестериннің тапшылығы гаплотипінің таралуы 11,8 % құрайды [3].

Ірі қара малды көбейту тиімділігін арттыру мақсатында тек жоғарғы репродуктивтік сипаттамалары бар, жоғары сапалы шәует алатын бұқалар ғана пайдаланылады, Алайда, қолдан ұрықтандыруда жоғарғы нәтижеге қол жеткізу үшін көбінесе қолданылатын шәуеттің сапасы мен ұрықтандырғыш қабілетіне байланысты болады. Біздің елімізде шетелдік селекциядағы голштейн тұқымының аналық басына генетикалық мониторинг жүргізу мәселесі, асыл тұқымды биологиялық материалдарды, атап айтқанда отандық және шетелдік селекцияның аталық асыл тұқымды бұқаларының қатырылған шәуетіне, асыл тұқымды аталық бұқаға генетикалық бақылау өзекті мәселе болып қала береді. Қазір сиырларда 20-дан астам ұрықтандырғыш гаплотиптер белгілі, олар эмбрионалдық өлім жиілігінің артуына байланысты репродуктивті функция көрсеткіштерінің төмендеуімен бірге жүретін, сиырлардың ұрықтануының төмендеуі, өміршең емес бұзаулардың туылуымен сипатталады. Жасырын мутациялардың тасымалдаушыларын дер кезінде анықтау екі гетерозиготалы жануарларды шағылыстырмауға, ұрықтандырмауға мүмкіндік береді, немесе, керісінше, тұқымдық өнімділігі жоғары гетерозиготалы бұқаларды өсіру кезінде бақылау жүргізу керек.

Жұмыстың мақсаты - голштейн тұқымдас сиырларындағы HH1, HH3, HH4, HCD ұрықтандырғыш гаплотиптерінің таралуын зерттеу және генетикалық ақауларды элиминацияға ұшырату үрдісін басқаруды жетілдіру. Зерттеудің міндеттері: асыл тұқымды шаруашылықтарда HH1, HH3, HH4, HCD ұрықтандырғыш гаплотиптерінің кездесу жиілігін ПТР әдісінің көмегімен анықтау.

Зерттеу материалдары мен әдістері. Зерттеуге Алматы облысының 3 асыл тұқымды шаруашылығындағы 556 бас шетелдік селекциясының голштейн тұқымдас сиырларның ДНҚ үлгілері пайдаланылды. Зерттеу материалдары ретінде сиырлардың құйрық асты күре тамырынан алынған, құрамында антикоагулянт ЭДТА бар қатырылған қан үлгілері қолданылды. Қан үлгілерінен ДНҚ бөліп алу классикалық фенол әдісімен жүзеге асырылды. Генотиптеу жұмыстарын жүргізуде арнайы әдебиеттерден алынған және біздер Primer 3 бағдарламасының көмегімен дизайн жасаған праймерлер қолданылды. Сиырлардағы ARAF генінің (HH1 гаплотипі) аллельдерін анықтауға ҚазҰАЗУ ғалымдары ұсынған келесі жұп праймерлер қолданылды: тура ARAF - 1 - F-5'- TGATCTTGGCTCTGGTTATGTT T -3' және ARAF-2 - R 5'- ACCTACTTACACCCACTCCAGGT -3', SMC2 гені (HH3 гаплотипі) сыртқы тура F 5'- TTAGTGGCTCTGTCATTAATCCTG -3' және сыртқы кері R 5'-ATACTGACCATTACTAAAGAATAG-3', ішкі тура F 5'- TGGACATATGCTACGTACTCAT

TCC-3' және ішкі кері R 5'-TTGGTTCTTACCTGAGAATGTGTGA-3'. Келесі локус, GART гені (HH4 гаплотипі) бойынша тасымалдаушы жануарларды детекция жасауға біздер дайындаған тура праймер - GART - F-5'- AAGTGAAGTTGCCAGTCGT -3' және кері праймер - GART - R 5'-

AAGTGCAGAGCAAGCCATCT-3' қолданылды. Холестерин тапшылығы генетикалық ақауын АРОВ гені (HCD гаплотипі) балауға әдебиетте берілген-жабайы типті аллельдерді анықтау үшін тура праймер - F - 5' - GGTGACCATCCTCTCTCTG

C - 3', мутация тасымалдаушылары үшін тура праймер F -5' - CACCTTCCGCTATTCGAGAG -3' және жалпы кері праймер R - 5' - AGTGGAACCCAGCTCCATTA - 3' қолдандық.

Гаплотип HH1 локусы бойынша генотиптеу жүргізу үшін ПТР-РФҰП талдау әдісі қолданылды, ПТР жүргізу шарттары: алғашқы саты - ДНҚ денатурациясы 94 °С, ұзақтығы 5 минут, екінші саты - денатурация 94 °С – 45 сек, праймерлердің жабысуы: АРАF гені үшін (HH1 гаплотипі) -60,0 °С- 45 сек, SMC2 гені үшін (HH3 гаплотипі) - 56,0 °С- 30 сек, GART гені үшін (HH4 гаплотипі) - 59,0 °С -30 сек, АРОВ гені үшін (HCD гаплотипі) - 60,0 °С -30 секунд, элонгация 72 °С 30 секунд, үшінші саты аяқтаушы синтез АРАF гені үшін (HH1 гаплотипі) -72 °С - 5 минут, SMC2 гені үшін (HH3 гаплотипі) - 72 °С - 7 минут, GART гені үшін (HH4 гаплотипі) - 72 °С - 5 минут, АРОВ гені үшін (HCD гаплотипі) - 72 °С - 3 минут, барлық локустар бойынша циклдар саны - 35.

ПТР балауы кеінде АРАF1 генінің амплификат фрагментінің ұзындығы 243 ж.н. құрайды. HH1 гаплотипінің тасымалдаушыларын анықтау BstC8I эндонуклеазасымен рестрикциялау тәсілімен жүзеге асырылды, рестрикциядан кейін 176 ж.н., 12 ж.н., 55 ж.н. фрагменттері түзіледі, ал гомозиготалы дені сау жануарларда электрофореграммада 176 ж.н. және 55 ж.н., гетерозиготалы тасымалдаушы сиырларда 188 ж.н., 176 ж.н. және 55 ж.н. фрагменттері пайда болады. Сиырлардағы HH3 гаплотипінің SMC2 генінің сыртқы праймер үшін амплификат фрагментінің ұзындығы 219 ж.н. қолданылады, ал тасымалдаушыларын анықтау үшін SspMI рестриктазасы қолданылады. Мутант және жабайы типтегі аллельдерді анықтау ішкі праймерлердің көмегімен жүзеге асырылады (аллельдің жабайы түрі – сыртқы тура праймер және кері ішкі праймерлермен амплификация бірге жүреді, ПТР өнімінің ұзындығы 155 ж.н., аллельдің мутант түрі - сыртқы кері және ішкі тура праймерлермен амплификация жүреді, ПТР өнімінің ұзындығы 112 ж.н.).

Ірі қара малындағы HH3 гаплотипінің SMC2 генінің ПТР балауының нәтижелерін горизонталдық электрофорез арқылы тексерілді, ДНҚ фрагменттері электрофореграммада дені сау гомозиготалы жануарларда екі фрагмент: 219 ж.н. және 155 ж.н. Егер HH3 гаплотипінің гетерозиготалы тасымалдаушылары болса, оларда үш фрагмент пайда болады: электрофореграммада 219 ж.н., 155 ж.н. және 112 ж.н. фрагменттері көрінеді.

Сиырлардағы HH4 гаплотипінің тасымалдаушыларын анықтау үшін жұп праймерді қолдану нәтижесінде біз 151 ж. н. ұзындықтағы GART генінің амплификатын алдық. GART генінің (А-жабайы тип, С- мутантты тип) аллелін детекциялау үшін біз, Tru9I рестриктазасын эндонуклеазасын қолдандық. Tru9I рестриктазасымен кескеннен кейін 2 ж.н., 63 ж.н., 59 ж.н., және 27 ж.н. фрагменттер пайда болды: жануарлардың генотипіне

байланысты 63 ж. н. және 59 ж. н. фрагменттердің пайда болады. Егер сиыр гомозиготалы дені сау болса, онда электрофореграммада 63 ж.н., 59 ж.н. фрагменттері пайда болады, ал жануар гетерозиготалы тасымалдаушы болса 122 ж.н., 63 ж.н., 59 ж.н. тұратын үш фрагменттер көрінеді. HCD - холестерин тапшылығы гаплотипінің АРОВ генінің жабайы типті аллельдерінің горизонталдық электрофорезбен 3% агароза гелімен қараған кезде алынған амплификат ұзындығы 249 ж. н., ал мутация тасымалдаушылары үшін амплификат ұзындығы 463 ж.н. құрады.

Зерттеу нәтижелері. Зерттеу жұмысы шетелдік селекциядағы асыл тұқымды голштейн сиырларында НН1, НН3, НН4, HCD ұрықтандырғыш гаплотиптерінің ДНҚ үлгілерін генотиптеу үшін Алматы облысы бойынша келесі шаруашылықтарда №1-200 бас, №2- 211 бас, №3-145 бас асыл тұқымды голштейн сиырларына жүргізілді. Зерттелген голштейн тұқымды сиырларында HCD- холестерин тапшылығы бойынша гетерозиготалы тасымалдаушылар №1 шаруашылығындағы 200 бас сиырдың 22 басында кездесіп, бұл сәй кесінше 11,0 % құрады, ал №2 – шаруашылықтағы 211 бас сиырлардың - 16 басында анықталып ол 7,58% құрады. НН1 ұрықтандырғыш гаплотипі бойынша №1 және №2 шаруашылықтардағы сиырларда гетерозиготалы тасымалдаушылар анықталған жоқ, ал №3 шаруашылығынан 145 ДНҚ үлгісі тексеріліп, 6 басында гетерозиготалы тасымалдаушы анықталып, аталған кемтарлықтың таралу деңгейі 4,13% болды. НН3 гаплотипінің ДНҚ сараптамасының қорытындысы бойынша №1-200 бас асыл тұқымды сиырлардың 7 басында гетерозиготалы тасымалдаушыларды анықтадық, ол сәйкесінше 3,5 % құрайды, ал №2 және №3 асыл тұқымды шаруашылығындағы сиырларда гетерозиготалы тасымалдаушылар анықталмады. НН4 ұрықтандырғыш гаплотипі бойынша тексерілген үш асыл тұқымды шаруашылықтың сиырларында гетерозиготалы тасымалдаушылар кездеспеді. Алғаш рет Қазақстандық популяцияның шетелдік селекциясының голштейн тұқымды ірі қара малында ұрықтандырғыш гаплотиптерінің НН1, НН3, НН4, HCD гетерозиготалы тасымалдаушылары таралғаны анықталып, генетикалық ақауларды анықтау әдістері оңтайландырылды.

Ескеретін жағдай, зерттеу тобындағы голштейн тұқымдас сиырларына Қазақстан Республикасының аумағына 2012-2014 жылдары импортталған, ол кезде ірі қара малы аталған НН1, НН3, НН4, HCD гаплотиптеріне молекулярлық-генетикалық әдістермен тексерілмеген. Бүгінгі таңда шет елден кірген биоматериалдар, тірі ірі қара малы, қатырылған шәует, қатырылған эмбриондар барлық жасырын генетикалық кемтарлықтарға тексерілгені туралы нәтижемен енгізіледі. Соңғы жылдары әлемде және біздің елімізде жоғарғы өнімді голштейн тұқымдас сиырларында тұқым қуалайтын ауытқулырдың кездесу жиілігі жоғарылауына байланысты, асыл тұқымды малдардың 15-20% жүйелі түрде генетикалық мониторингтен өткізіп отыру қажет. Ірі қара малында кездесетін BLAD, CVM, BC, DUMPS, HCD, НН0, НН1, НН2, НН3, НН4, НН5 гаплотиптеріне балау жасауға молекулярлық-генетикалық әдістері оңтайластырылған, осы локустар

бойынша жүйелі түрде мониторинг жасау, осы зиянды мутацияларды элиминация жасауға бағытталған үрдістерді басқаруға мүмкіндік береді. Бүгінгі стратегия бойынша, гетерозиготалы тасымалдаушы жануарлар жарамсыз деп табылмайды, тек гетерозиготалы тасымалдаушы аналық және аталық жануарларды пайдаланғанда, гомозиготалы эмбрион болмауына жол бермеу қажет.

Қорытынды. Алматы облысының асыл тұқымды сүт бағытындағы үш шаруашылықтарында голштейн тұқымдас шет елдік селекция сиырларында жасырын генетикалық кемтарлықтың таралуы: холестерин тапшылығы (гаплотип НСD) бойынша 7,58% - 11,0% аралығында болды, НН1 гаплотипінің кездесу жиілігі №3 шаруашылықта 4,13% болды. Гаплотип НН3 ақауы тек №1 шаруашылығында кездесті және таралуы 3,5 % құрады.

Зерттеу жұмысы ҚР БҒМ ұсынған жобаны іске асыру шеңберінде ИРН АР09057988 «Ірі қара малында жасырын генетикалық мутацияларды балау әдістерін ойлап табу және тұқымқуалайтын кемтарлықтарды жою үрдісін басқару» тақырыбы бойынша орындалды.

Әдебиет тізім

1 Lindsay R. Upperman, Brian P. Kinghorn, Michael D. MacNeil and Alison L. Van Eenennaam. Management of lethal recessive alleles in beef cattle through the use of mate selection software. *Genet Sel Evol* (2019) 51:36.

2 Зиновьева Н.А. Гаплотипы фертильности голштинского скота. (обзор). *Сельскохозяйственная биология*, 2016, том 51, № 4, с. 423-435.

3 Багдат А.Б., Sobiech P., Позовникова М.В., Усенбеков Е.С. Молекулярно-генетические методы детекции гаплотипов фертильности у племенных коров. Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» 22-23 ноября 2018 г, Санкт-Петербург, стр 22-23