

өнімділік бағытындағы қылшық жүнді қойлардың үздік тұқымына тән жоғары сою және ет сапасымен сипатталады. 4-4, 5 ай екендігі анықталды. сояр алдындағы тірі салмағы, ұшаның құйрығымен салмағы және сойыс салмағы $1/3$ – тен асады, ал 16 айлық кезеңде-ересек қошқарлардың $3/4$ деңгейінде, бұл жас Еділбай қойларының ерте жетілгендігін көрсетеді. Сондай-ақ, зерттелген топтардың жас малдарындағы қаңқаның шығуы жасына қарай артып, сүйектер мен сіңірлер, керісінше, төмендейтіні анықталды. Бұл көрсеткіштер 4-4,5 айлық жаста кесу кезінде тиісінше 80,0-80,5 және 19,5-20,0%, 6,5-7 айлық – 80,3-80,8 және 19,2-19,7%, 16 айлық – 81,5-81,8 және 18,2-18,5% шегінде ауытқиды.

Бұлшықет тінінің абсолютті массасы жасына қарай артады, ал қозылардың қаңқасындағы бұлшықет тінінің салыстырмалы үлесі артады: бұл көрсеткіштер 4-4, 5 ай. 10,3-11,11 кг; 56,8-57,5%; 6,5-7 айда – 10,94-11,89 кг; 56,3-56,7%; 16 айда – 19,57-20,90 кг; 59,1-59,4%.

Алынған мәліметтер 6-45 айдан 6,5 – 7 айға дейін куәландырады. Жас мөлшері қойдың қаңқаларында негізінен майлы тін қарқынды өседі, ал келесі кезеңде 16 айға дейін. бұлшықет тінінің жасы 4,5-тен 6,5-7 айға дейін анықталады. Бұлшықет пен сүйек тіндерінің өсуі шамамен бірдей қарқындылықпен жүреді. Қаңқаның құрамындағы аталған тіндердің мұндай дамуы жайылымға бейімделген құйрықты қойларға тән деп қорытынды жасауға болады.

РЕЗЮМЕ

Овцы эдилбайской породы, разводимые в стадах племязаводов ПК «Суиндикский», ПК «Макаш» и имени Курмангазы Атырауской области, характеризуются высокими убойными и мясными качествами, свойственными лучшим породам грубошерстных овец мясо-сального направления продуктивности. Установлено, что у 4-4,5 мес. баранчиков при отбивке предубойная живая масса, масса туши с курдюком и убойная масса составляют более $1/3$, а у 16 месячных – примерно на уровне $3/4$ показателей взрослых баранов, что говорит о высокой скороспелости молодняка эдилбайских овец. Установлено также, что выход мякоти туши у молодняка исследуемых групп с возрастом повышается, а костей и сухожилий, наоборот, снижается. Эти показатели в 4-4,5 месячном возрасте при отбивке колеблются соответственно в пределах 80,0-80,5 и 19,5-20,0%, в 6,5-7 месячном – 80,3-80,8 и 19,2-19,7%, в 16 месячном – 81,5-81,8 и 18,2-18,5%.

Установлено, что абсолютная масса мышечной ткани с возрастом увеличивается, при этом возрастает и сравнительная доля мышечной ткани в туше баранчиков: эти показатели в 4-4,5 мес. возрасте составляют соответственно 10,3-11,11 кг; 56,8-57,5%; в 6,5-7 месяцев – 10,94-11,89 кг; 56,3-56,7%; в 16 месяцев – 19,57-20,90 кг; 59,1-59,4%. Полученные данные свидетельствуют о том, что в период с 4-45 до 6,5 – 7 мес. Возрастов в тушах баранчиков, в основном, более интенсивно растет жировая ткань, а в последующий период до 16 мес. возраста мышечная ткань. Определено, что в период с 4,5 до 6,5-7 мес. Возрастов рост мышечной и костной тканей происходит примерно с одинаковой интенсивностью. Можно заключить, что такое развитие названных тканей в составе туши свойственно курдючным овцам, приспособленным к пастбищному содержанию.

УДК 636.06:636.32/.38
МРНТИ 68.39.31

DOI 10.56339/2305-9397-2022-2-2-59-68

Ибадуллаева А., магистр технических наук, **основной автор**, <https://orcid.org/0000-0003-2955-4034>

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г.Алматы, проспект Абая, 8, 050010, Казахстан, akerke.ibadullayeva@gmail.com

Хамзина А., PhD докторант, магистр технических наук, <https://orcid.org/0000-0003-2211-0377>

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», г. Уральск, ул. Жангир хана, 51, 090009, Казахстан, aigerim.khamzina55@gmail.com

Бейшова И., к.с.-х.н., <https://orcid.org/0000-0001-5293-2190>

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», г. Уральск, ул. Жангир хана, 51, 090009, Казахстан, indira_bei@mail.ru

Уразова Г., магистрант, <https://orcid.org/0000-0002-1527-8270>

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», г. Уральск, ул. Жангир хана, 51, 090009, Казахстан, urazovagulfia@gmail.com

Ibadullayeva A., master of technical sciences, the main author, <https://orcid.org/0000-0003-2955-4034>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abay 8, 050010, Kazakhstan, akerke.ibadullayeva@gmail.com

Khamzina A., PhD student, master of technical sciences, <https://orcid.org/0000-0003-2211-0377>

NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir khan», Uralsk, st. Zhangir khan 51, 090009, Kazakhstan, aigerim.khamzina55@gmail.com

Beishova I., candidate of agricultural science, <https://orcid.org/0000-0001-5293-2190>

NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir khan», Uralsk, st. Zhangir khan 51, 090009, Kazakhstan, indira.bei@mail.ru

Urazova G., undergraduate, <https://orcid.org/0000-0002-1527-8270>

NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir khan», Uralsk, st. Zhangir khan 51, 090009, Kazakhstan, urazovagulfia@gmail.com

СРАВНЕНИЕ ТРЕХ МЕТОДОВ ЭКСТРАКЦИИ ДНК ОВЕЦ ПОРОДЫ ЕДИЛБАЙ COMPARISON OF THREE PROCEDURES OF DNA EXTRACTION FROM SHEEP OF THE EDILBAI BREED

Аннотация

Казахстан является одним из главных производителей баранины. Овцеводство является экономически важной частью селекции сельскохозяйственных животных в стране. Целью статьи было выявление экономически эффективного научного метода выделения ДНК для генотипирования казахских овец породы Едилбай. В этом исследовании мы выполнили первый шаг (извлечение ДНК) в генотипировании овец породы Едилбай для дальнейшего определения хозяйственно-полезных признаков. В последние годы технологии секвенирования и микрочипы нового поколения произвели революцию в научных исследованиях, применив их для высокопроизводительного анализа биологических систем. Отбор больших количеств чистой, фактически высококонцентрированной, незагрязненной геномной ДНК является необходимым условием для успешного и надежного анализа генотипирования. Для анализа микрочипов также требуется минимальная концентрация 50 нг/мкл. В этом исследовании были изучены три различных метода извлечения ДНК, чтобы идентифицировать их относительную эффективность для извлечения ДНК из выщипов ушей овец с точки зрения количества, концентрации, чистоты, целостности и пригодности для ПЦР в реальном времени. Качество и количество дифференциально выделенной ДНК впоследствии оценивали с использованием спектрофотометрических измерений (NanoDrop), ПЦР-амплификации в реальном времени на основе гель-электрофореза. Также были оценены время обработки, трудоемкость и стоимость каждого метода. Согласно результатам исследования, выделение коммерческим набором прост и безопасен, но дорогой, фенол-хлороформный метод и солевой метод извлечения ДНК, которые являются более экономичными, очень эффективны для извлечения относительно чистой ДНК. Сравнивая эти последние два метода, солевой метод был безопасным. В заключение следует отметить, что для генотипирования был выбран солевой метод, поскольку коммерческий метод является дорогостоящим, а фенол-хлороформный метод более опасен.

ANNOTATION

Kazakhstan is one of the main producers of mutton. Sheep breeding is an economically important part of the breeding of farm animals in the country. The purpose of the article was to identify a cost-effective scientific method of DNA isolation for genotyping Kazakh sheep of the Edilbai breed. In this study, we performed the first step (DNA extraction) in the genotyping of Edilbai sheep for further determination of economically useful traits. In recent years, new generation sequencing technologies and microchips have revolutionized scientific research by applying them to highly productive analysis of biological systems. The selection of large amounts of pure, in fact highly

concentrated, uncontaminated genomic DNA is a prerequisite for successful and reliable genotyping analysis. Microchip analysis also requires a minimum concentration of 50 ng/ml. In this study, three different DNA extraction methods were examined to identify their relative effectiveness for extracting DNA from sheep ear tips in terms of quantity, concentration, purity, integrity, and suitability for real-time PCR. The quality and quantity of differentially isolated DNA were subsequently evaluated using spectrophotometric measurements (NanoDrop), real-time PCR amplification based on gel electrophoresis. The processing time, labor intensity and cost of each method were also estimated. According to the results of the study, isolation by a commercial kit is simple and safe, but expensive, the phenol-chloroform method and the salt method of DNA extraction, which are more economical, are very effective for extracting relatively pure DNA. Comparing these last two methods, the salt method was safe. In conclusion, it should be noted that the salt method was chosen for genotyping, since the commercial method is expensive, and the phenol-chloroform method is harmful.

Ключевые слова: овцеводство, селекция, генотипирование, выделение ДНК, казахские породы овец, электрофорез, едилбай, фенол-хлороформный метод, солевой метод.

Key words: sheep breeding, genotyping, DNA extraction, Kazakh sheep breeds, electrophoresis, Edilbay, phenol-chloroform method, salt method.

Введение. Овцы – основной вид домашнего скота Казахстана, стран Центральной Азии. За последние 10 лет прирост поголовья овец увеличился, и на сегодняшний день овцеводство является ведущей отраслью животноводства в стране [1].

В генофонде страны насчитывается более 20 пород овец, многие из которых были выведены в Казахстане. Сохранение породного разнообразия в будущем является важной проблемой.

Порода Едилбай была выведена во второй половине XIX в. в Казахстане путем народной селекции местными жителями [2]. Порода характеризуется выдающейся мясной продуктивностью. С 1930-х годов в Казахской ССР проводилась селекционно-племенная работа; были выявлены типы помесей Бирлик и Суюндук [3].

Овцы породы Едилбай относят к грубошерстным, но по ряду параметров мясной продуктивности она может конкурировать с овцами английских мясных и шерстяных пород.

Животные этой породы обладают высокими продуктивными качествами: высокой скороспелостью в молодом возрасте; терпимы к полупустынному и сухостепному климатическим зонам в разные сезоны года; способны передавать потомству свои хозяйственно полезные качества как при чистопородном разведении, так и при скрещивании с другими курдючными породами [4].

Более того, они считаются частью культуры целого народа, звеном в эволюции вида и отражают закономерности формирования географического генофонда [5].

Мясное овцеводство, в свою очередь, добилось значительных успехов благодаря прикладной генетике. В программах разведения обычно использовались племенные бараны, отобранные на основе качества их потомства, предков. В то же время использование достижений молекулярной генетики может вывести такую работу на новый уровень [6].

Дальнейшее повышение продуктивности овец невозможно без современных достижений в области сельскохозяйственной генетики. Во многих странах для создания пород, типов и линий животных широко применяются новые подходы, основанные на использовании генетических маркеров селекционных признаков [7].

Использование технологий секвенирования следующего поколения в генетических исследованиях повысило необходимость сбалансировать время и стоимость выделения ДНК без ущерба для качества. Методы извлечения ДНК, которые дают высококачественную ДНК, могут быть критической точкой в таких исследованиях. Качество извлеченной ДНК важно для исследований с использованием NGS, также для повторных или дополнительных анализов в последующие годы. Таким образом, для преодоления методологического препятствия необходимо определить методы экстракции, которые ускоряют экстракцию без ущерба для качества ДНК [8].

Генетическая характеристика домашнего скота и их разновидности были изучены с использованием инструментов молекулярной генетики. В настоящее время существует

множество молекулярных методов для выявления генетического разнообразия на уровне ДНК для общей генетической характеристики и дифференциации породы [9].

ДНК, выделенная из различных биологических образцов, может быть использована для широкого спектра последующих применений, а именно для секвенирования ДНК, полимеразной цепной реакции (ПЦР), количественной ПЦР (qPCR), саузерн-блоттинга, случайной амплификации полиморфной ДНК (RAPID), подготовки геномных библиотек, а также полиморфизма длины амплифицированного фрагмента (AFLP), полиморфизм длины рестрикционного фрагмента (RFLP), полиморфизм коротких tandemных повторов (STRP), однонуклеотидный полиморфизм (SNP) и применение с переменным числом tandemных повторов (VNTR) [10].

Выбор подходящего метода извлечения ДНК имеет решающее значение. ДНК может быть очищена с использованием многих методов, которые могут включать либо процедуры экстракции на основе раствора, либо на основе твердого вещества [11].

На сегодняшний день существует множество различных доступных протоколов для извлечения ДНК. Большинство протоколов извлечения ДНК состоят из двух частей: 1. лизирование клеток и растворение ДНК. 2: ферментативные или химические методы удаления загрязняющих белков, РНК или макромолекул. Но эти протоколы отличаются стоимостью расходных материалов, лабораторным оборудованием, качеством и количеством полученной ДНК, токсичностью и затратами времени и труда [12].

В настоящее время доступно множество коммерческих наборов для извлечения ДНК с использованием различных реагентов и технологий. Некоторые из них предназначены для автоматизированной системы [11].

Коммерческие наборы для извлечения ДНК просты, быстры и безопасны, но эти наборы очень дороги с невысоким выходом, поэтому не подходят для извлечения ДНК в больших масштабах [13].

Фенол-хлороформный метод, который обычно используется, имеет ряд преимуществ и недостатков. Преимущества заключаются в том, что получается относительно чистая ДНК с высокой молекулярной массой, ДНК двухцепочечная и подходит для ПЦР ПДРФ (полиморфизм длины рестрикционного фрагмента). Но этот метод отнимает много времени, требует переноса образца в несколько пробирок (увеличивает риск контаминации) и осуществляется с применением токсичных химических веществ [14].

Солевой метод - это простой и нетоксичный метод извлечения ДНК, представленный Miller et.al, который выделяет высококачественную ДНК [15]. В качестве экстрагентов используются органические растворители, смешивающиеся с водой, которые обычно обладают низкой токсичностью, а использование солей практически не загрязняет окружающую среду [16].

При выборе подходящего метода извлечения ДНК крайне важно обеспечить качество и количество выделенной ДНК для выполнения намеченных последующих применений. Другие факторы, которые следует принимать во внимание для оптимизации метода извлечения ДНК, включают время, стоимость, потенциальную токсичность, выход, требования к лабораторному оборудованию и экспертизе, а также необходимое количество образца для протокола [17].

Несмотря на то, что извлечение ДНК играет ключевую роль в успехе полногеномных исследований и в долгосрочном хранении, не существует установленных единого стандартного метода для извлечения качественной геномной ДНК.

Цель исследования заключалась в сравнении выделения ДНК из ткани классическим фенол-хлороформным, солевым методами и коммерческим протоколом. Мы сравнили количество и качество извлеченной ДНК, энергозатратность процедур, а также стоимость.

Материалы и методы исследований. Материалом используемым для выделения ДНК являлись ткани (ушные выщипы) отечественной породы овец Едилбай. Было собрано по 4 образца (ушной ткани) для каждого метода, в общем количестве 12.

Выделение ДНК проводилось 3 методами: солевой метод, коммерческим комплектом Purelink Genomic Kit и классический фенол-хлороформный метод.

Выделение ДНК

Солевой метод. Протокол экстракции был стандартизирован в 1988 году Миллером и др. [18].

Половину ткани промыли два раза в спирту, два раза в деионизированной воде (каждый раз вортиксировали чистили носиком наконечника). Добавили 500 мкл TES буфер, 20 мкл SDS и 10 мкл протеиназы К. Вортиксировали и оставили на ночь при 55*С с покачиванием. Затем центрифугировали при 12 тысячи оборотов в 10 мин. Влили супернатант в чистую пробирку и добавили 500 мкл NaCl. Вортиксировали 15 сек и центрифугировали при 12 тысячи оборотов в 10 мин. Супернатант влили в чистую пробирку и добавили 1000 мкл холодного изопропилового спирта и медленно переворачивали 10 раз. Поставили на -20*С на 1 час и центрифугировали при 12 тысячи оборотов в 10 мин при 4*С. Затем осторожно слили изопропиловый спирт (убедиться что на дне пробирки есть ДНК в виде белого осадка), подсушили (можно удалить жидкость чистым наконечником не трогая осадок или подержать пробирки при 65*С) и центрифугировали при 12 тысячи оборотов в 10 мин при комнатной температуре. Повторно ресуспендировали ТЕ-буфером.

Коммерческий комплект Purelink Genomic Kit. ДНК из образцов были выделены набором Purelink Genomic Kit, согласно протоколу [19] производителя. Набор PureLink Genomic DNA Mini Kit позволяет извлекать геномную ДНК (гДНК) с высоким выходом и высокой чистотой из самых разных типов образцов. Состоял из четырех шагов: подготовка проб, связывание ДНК, промывка и элюирование.

Фенол-хлороформный метод. Экстракцию проводили в соответствии с процедурой Баркера [20]. Лизис клеток проводили использованием буфера на основе ферментов и детергентов (протеиназа К с додецилсульфатом натрия). Органическую экстракцию выполняли путем добавления равного объема фенола к образцу ДНК, перемешивали смеси и центрифугировали, чтобы обеспечить разделение фаз. Верхний водный слой осторожно удалили в новую пробирку, избегая контакта с фенолом. После добавили хлороформ для извлечения остаточного фенола из водной фазы. ДНК концентрировали путем осаждения этанолом в присутствии соли. После промывки 70%-ным этанолом ДНК высушивали в вакууме и растворяли в буфере с низким содержанием соли.

Спектрофотометрический анализ ДНК. Концентрацию, чистоту (соотношение A260/A280) и концентрацию измеряли с помощью Thermo Scientific NanoDrop™ 2000 Спектрофотометр (Thermo Scientific, Германия) с использованием 1 мкл каждого образца. Для анализа микрочипов требуется минимальная концентрация 50 нг/мкл.

Результаты и их обсуждение. Качество и количество ДНК, извлеченной из образцов ткани, является ключевой особенностью. Здесь мы оценили его с помощью нескольких часто используемых методов. (Таблица 1).

Таблица 1 – Количество и чистота ДНК овец, выделенной 3 методами

Метод выделения	Концентрация ДНК нг/мкл		Отношение A260/A280
Солевой метод	1	59.4	1.07
	2	55.4	1.27
	3	59.6	1.08
	4	50.07	1.28
Коммерческий комплект Purelink Genomic Kit	1	61.2	1.08
	2	53.0	1.24
	3	50.0	1.38
	4	59.4	1.02
Фенол-хлороформный метод	1	48.5	1.25
	2	45.2	1.11
	3	45.3	1.12
	4	43.4	1.26

Полученные образцы подверглись к электрофорезу. На электрофорезе образцов ДНК, выделенных классическим фенол-хлороформным методом видно, что ДНК имеет не четкую полосу, что свидетельствует о ее малой фрагментации (Рисунок 1)

Соотношение, измеренное при 260/280 нм, использованное в качестве показателя загрязнения белками, находилось в пределах диапазона, подходящего для анализа ДНК. Оценивая целостность нуклеиновой кислоты, экстрагированной тремя методами, во всех образцах концентрация около 50 нг/мкл. По таблице можно сравнить, что ДНК, экстрагированная солевым методом и коммерческим комплектом имеет концентрацию выше 50 нг/мкл, что важно для дальнейшего успешного генотипирования. Извлечение с помощью фенол-хлороформного метода показало концентрацию в пределах 43.4 нг/мкл и 48.5 нг/мкл

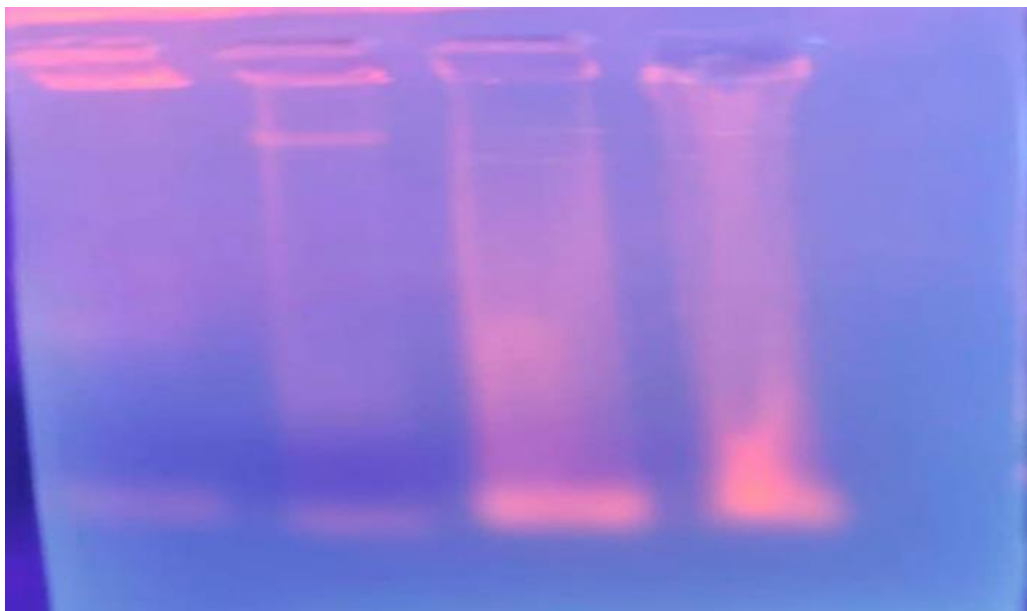


Рисунок 1 – Электрофореграмма образцов ДНК, выделенных фенол-хлороформным методом

По электрофореграмме наглядно видно, что с помощью солевого метода были получены главным образом высокомолекулярные фрагменты ДНК (Рисунок 2).

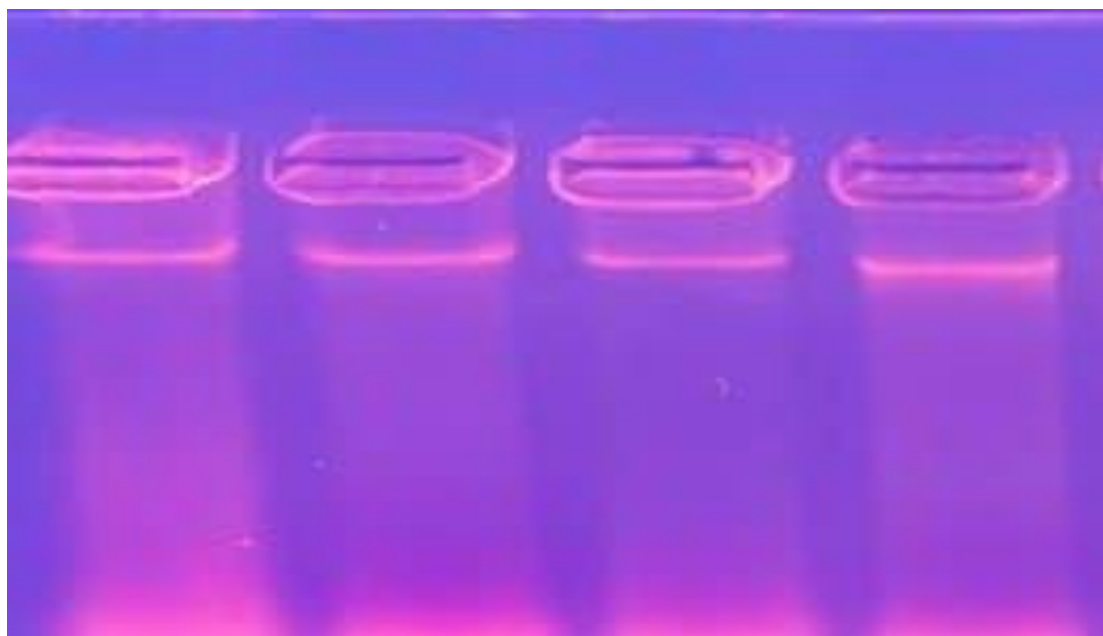


Рисунок 2 – Электрофореграмма образцов ДНК, выделенных солевым методом

Электрофореграмма ДНК, выделенных согласно протоколу коммерческого комплекта Purelink Genomic Kit, показывает четкую фрагментацию (Рисунок 3)

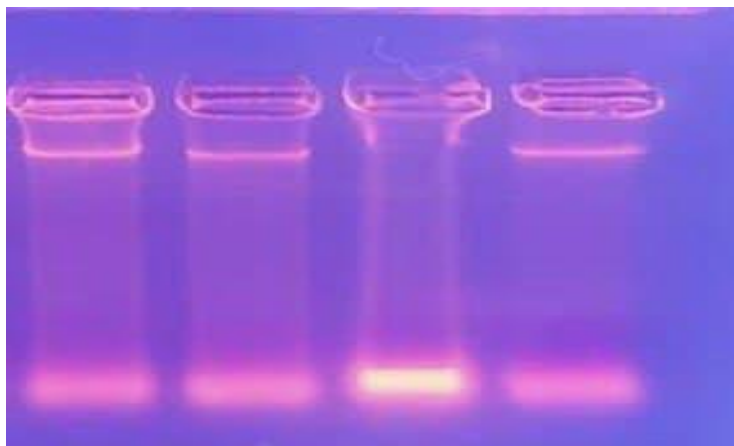


Рисунок 3 – Электрофореграмма образцов ДНК, выделенных по протоколу Purelink Genomic Kit

Выводы. В заключении можно сделать вывод, что экстракция ДНК из ткани солевым методом является наиболее эффективным. Использование этого метода позволяет получить высокомолекулярной ДНК с желательной концентрацией и не требует применения вредного для организма фенола. Чистота высокая, что позволяет широко использовать ДНК для дальнейших генетических исследований, таких как генотипирование. Экстракция коммерческим набором Purelink Genomic Kit более быстр в исполнении по сравнению с остальными двумя методами, но является дорогостоящим. Соответственно наиболее оптимальным по качеству, результативности, безопасности и ценовой политики оказался солевой метод выделения ДНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Комитет по статистике Министерства национальной экономики РК [Электрон. ресурс]. -2019. – URL: www.stat.gov.kz (дата последнего обновления : 10.09.2020).
- 2 Андреева, В. А. Эдильбаевская порода овец в России/В.А. Андреева// Сельскохозяйственные науки: материалы 57-й Международной научной студенческой конференции, Новосибирск, 14–19 апреля 2019 года/ Новосибирский государственный аграрный университет; Новосибирский государственный университет. – Новосибирск: Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 2019. – С. 64.
- 3 Deniskova T. E. Population structure and genetic diversity of 25 Russian sheep breeds based on whole-genome genotyping / T. E. Deniskova //Genetics Selection Evolution. – 2018. – Т. 50. – №. 1. – P. 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12711-018-0399-5>
- 4 Филатов, А. С. Показатели качества полуфабрикатов, выработанных из баранины/ А. С. Филатов, Е. А. Петрухина, А. Г. Мельников // Аграрно-пищевые инновации. – 2018. – № 4(4). – С. 64-68. – DOI 10.31208/2618-7353-2018-4-64-68. – EDN VOLONK.
- 5 Садыкулов Т.С. Проблемы использования генофонда курдючных пород овец в отечественном овцеводстве / Т.С. Садыкулов // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана, 2000. – № 7. – С. 37-40.
- 6 Deniskova T. E. et al. Comparative analysis of the effectiveness of STR and SNP markers for intraspecific and interspecific differentiation of the genus Ovis / T. E. Deniskova et al. //Russian Journal of Genetics. – 2016. – Т. 52. – №. 1. – P. 79-84. <https://doi.org/10.1134/S1022795416010026>
- 7 Зиновьева Н. А. Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева // Зоотехния. – 2010. – № 1. – С. 8-10. – EDN JWJHPV.
- 8 Schiebelhut L. M., Abboud S. S., Gómez Daglio L. E., Swift H. F., Dawson M. N. A comparison of DNA extraction methods for high-throughput DNA analyses. Molecular Ecology Resources / L. M. Schiebelhut, S. S. Abboud, L.E. Gómez Daglio, H. F. Swift, M. N. Dawson // Molecular Ecology Resources. – 2017. – Т. 17. – №. 4. – P. 721-729. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12620>

- 9 Ghaheeri M., Kahrizi D., Yari K., Babaie A., Suthar R. S., Kazemi E. A comparative evaluation of four DNA extraction protocols from whole blood sample / M. Ghaheeri, D. Kahrizi, K. Yari, A. Babaie, R. S. Suthar, E. Kazemi //Cellular and Molecular Biology. – 2016. – T. 62. – №. 3. – P. 120-124. Retrieved from <http://cellmolbiol.org/index.php/CMB/article/view/830>
- 10 Dhaliwal A. DNA extraction and purification / A. Dhaliwal //Mater Methods. – 2013. – T. 3. – P. 191.
- 11 Carpi F. M., Di Pietro F., Vincenzetti S., Mignini F., Napolioni V. Human DNA extraction methods: patents and applications / F. M Carpi, F. Di Pietro, S. Vincenzetti, F. Mignini, V. Napolioni //Recent Patents on DNA & Gene Sequences (Discontinued). – 2011. – T. 5. – №.1. – P. 1-7.
- 12 Chacon-Cortes D, Griffiths LR. Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives / D. Chacon-Cortes, LR. Griffiths //Journal of Biorepository Science for Applied Medicine. – 2014. – T. 2014. – №. 2. – P. 1-9.
- 13 Schweighardt A.J., Tate C.M., Scott K.A., Harper K.A., Robertson JM. Evaluation of commercial kits for dual extraction of DNA and RNA from human body fluids / AJ. Schweighardt, CM. Tate, KA. Harper, JM. Robertson //Journal of forensic sciences. – 2015. – T. 60. – №. 1. – P. 157-165.
- 14 Sambrook J, Russell DW, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3-Volume Set). Cold spring harbor laboratory press, Cold Spring Harbor, New York 2001.
- 15 Suguna S, Nandal D, Kamble S, Bharatha A, Kunkulol R. Genomic DNA isolation from human whole blood samples by non enzymatic salting out method. Int J pharm pharm sci 2014; 6:198- 9.
- 16 Alshishani A., Salhimi S. M., Saad B. Salting-out assisted liquid-liquid extraction coupled with hydrophilic interaction chromatography for the determination of biguanides in biological and environmental samples / A. Alshishani, S.M. Salhimi, B. Saad //Journal of Chromatography B 1073, 51-59, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.12.013>
- 17 Chacon Cortes D. F., Griffiths L. Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives / D. F. Chacon Cortes, L. Griffiths //Journal of Biorepository Science for Applied Medicine. – 2014. – T. 2014. – №. 2. – P. 1-9.
- 18 Perwitasari D.A., Faridah I.N., Ratnasari Y.A., Agustina K., Utami I.N., Maliza R. Uji Banding Metode Isolasi DNA Sampel FTA Card menggunakan Kit Wizard® Genomic DNA Purification, PureLink® Genomic DNA, dan Chelex-100 / D. A. Perwitasari, I. N. Faridah, Y. A. Ratnasari, K. Agustina, I. N. Utami, R. Maliza //Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. – 2020. – T. 18. – №. 2. – P. 241-245.
- 19 Barker K. Phenol-Chloroform Isoamyl Alcohol (PCI) DNA Extraction / Barker K // At the bench: a laboratory navigator. 1st edn. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1998) P. 284–289.
- 20 MWer S., Dykes D., Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells / S. MWer, D. Dykes, H. Polesky //Nucleic acids res. – 1988. – T. 16. – №. 3. – P. 1215.

REFERENCES

- 1 Komitet po statistike Ministerstva natsional'noy ekonomiki RK [Elektron. resurs]. -2019. – URL: www.stat.gov.kz (data poslednego obnovleniya : 10.09.2020).
- 2 Andreeva V. A. Edilbaevskaya breed of sheep in Russia/V. A. Andreeva//Agricultural Sciences : Materials of the 57th International Scientific Student Conference, Novosibirsk, April 14-19, 2019 / Novosibirsk State Agrarian University; Novosibirsk State University. - Novosibirsk: Novosibirsk National Research State University, 2019. – P. 64.
- 3 Deniskova T. E. Population structure and genetic diversity of 25 Russian sheep breeds based on whole-genome genotyping / T. E. Deniskova //Genetics Selection Evolution. – 2018. – T. 50. – №. 1. – P. 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12711-018-0399-5>
- 4 Filatov A. S. Pokazateli kachestva polufabrikatov, vyrabotannykh iz baraniny/A. S. Filatov, E. A. Petrukhina, A. G. Mel'nikov // Agrarno-pishchevye innovatsii. – 2018. – № 4(4). – S. 64-68. – DOI 10.31208/2618-7353-2018-4-64-68. – EDN VOLOHK.

5 Sadykulov T.S. Problemy ispol'zovaniya genofonda kurdyuchnykh porod ovets v otechestvennom ovtsevodstve / T.S. Sadykulov // Vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki Kazakhstana, 2000. – № 7. – S. 37-40.

6 Deniskova T. E. et al. Comparative analysis of the effectiveness of STR and SNP markers for intraspecific and interspecific differentiation of the genus *Ovis* / T. E. Deniskova et al. // Russian Journal of Genetics. – 2016. – T. 52. – №. 1. – P. 79-84. <https://doi.org/10.1134/S1022795416010026>

7 Zinoveva N. A. Rol DNK-markerov priznakov produktivnosti sel'skohozyajstvennykh zhivotnykh / N. A. Zinoveva // Zootekhnika. – 2010. – № 1. – S. 8-10. – EDN JWJHPV.

8 Schiebelhut L. M., Abboud S. S., Gómez Daglio L. E., Swift H.F., Dawson M. N. A comparison of DNA extraction methods for high-throughput DNA analyses. *Molecular Ecology Resources* / L. M. Schiebelhut, S. S. Abboud, L. E. Gómez Daglio, H. F. Swift, M. N. Dawson // *Molecular Ecology Resources*. – 2017. – T. 17. – №. 4. – C. 721-729. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12620>

9 Ghaheri M., Kahrizi D., Yari K., Babaie A., Suthar R. S., Kazemi E. A comparative evaluation of four DNA extraction protocols from whole blood sample / M. Ghaheri, D. Kahrizi, K. Yari, A. Babaie, R. S. Suthar, E. Kazemi // *Cellular and Molecular Biology*. – 2016. – T. 62. – №. 3. – P. 120-124. Retrieved from <http://cellmolbiol.org/index.php/CMB/article/view/830>

10 Dhaliwal A. DNA extraction and purification / A. Dhaliwal // *Mater Methods*. – 2013. – T. 3. – P. 191.

11 Carpi F. M., Di Pietro F., Vincenzetti S., Mignini F., Napolioni V. Human DNA extraction methods: patents and applications / F. M. Carpi, F. Di Pietro, S. Vincenzetti, F. Mignini, V. Napolioni // *Recent Patents on DNA & Gene Sequences (Discontinued)*. – 2011. – T. 5. – №. 1. – P. 1-7.

12 Chacon-Cortes D, Griffiths LR. Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives / D. Chacon-Cortes, LR. Griffiths // *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine*. – 2014. – T. 2014. – №. 2. – P. 1-9.

13 Schweighardt AJ., Tate CM., Scott KA., Harper KA., Robertson JM. Evaluation of commercial kits for dual extraction of DNA and RNA from human body fluids / AJ. Schweighardt, CM. Tate, KA. Harper, JM. Robertson // *Journal of forensic sciences*. – 2015. – T. 60. – №. 1. – P. 157-165.

14 Sambrook J, Russell DW, Russell DW. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3-Volume Set). Cold spring harbor laboratory press, Cold Spring Harbor, New York 2001.

15 Suguna S, Nandal D, Kamble S, Bharatha A, Kunkulol R. Genomic DNA isolation from human whole blood samples by non enzymatic salting out method. *Int J pharm pharm sci* – 2014. – 6. – 198-9.

16 Alshishani A., Salhimi S. M., Saad B. Salting-out assisted liquid-liquid extraction coupled with hydrophilic interaction chromatography for the determination of biguanides in biological and environmental samples / A. Alshishani, S.M. Salhimi, B. Saad // *Journal of Chromatography B* 1073, 51-59, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.12.013>

17 Chacon Cortes D. F., Griffiths L. Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives / D. F. Chacon Cortes, L. Griffiths // *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine*. – 2014. – T. 2014. – №. 2. – P. 1-9.

18 Perwitasari D. A., Faridah I. N., Ratnasari Y. A., Agustina K., Utami I. N., Maliza R. Uji Banding Metode Isolasi DNA Sampel FTA Card menggunakan Kit Wizard® Genomic DNA Purification, PureLink® Genomic DNA, dan Chelex-100 / D. A. Perwitasari, I. N. Faridah, Y. A. Ratnasari, K. Agustina, I. N. Utami, R. Maliza // *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. – 2020. – T. 18. – №. 2. – P. 241-245.

19 Barker K. Phenol-Chloroform Isoamyl Alcohol (PCI) DNA Extraction / Barker K // *At the bench: a laboratory navigator*. 1st edn. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1998) P. 284–289.

20 MWer S., Dykes D., Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells / S. MWer, D. Dykes, H. Polesky // *Nucleic acids res.* – 1988. – T. 16. – №. 3. – P. 1215.

ТҮЙІН

Қазақстан қой етінің басты өндірушілерінің бірі болып табылады. Қой шаруашылығы- елдегі ауылшаруашылық жануарларын өсірудің экономикалық маңызды бөлігі бөлігі болып табылады. Мақаланың мақсаты еділбай тұқымды қазақ қойларын генотиптеу үшін ДНҚ экстракциялаудың экономикалық тиімді ғылыми әдісін анықтау болды. Бұл зерттеуде біз шаруашылыққа пайдалы белгілерді одан әрі анықтау үшін еділбай тұқымды қойларды генотиптеудің алғашқы қадамын (ДНҚ алу) орындадық. Соңғы жылдары секвенирлеу технологиялары мен жаңа буын микрочиптері ғылыми зерттеулерде төңкеріс жасап, оларды биологиялық жүйелерді жоғары өнімді талдау үшін қолданды. Таза, іс жүзінде жоғары концентрацияланған, ластанбаған геномдық ДНҚ-ны алу генотиптеуді сәтті және сенімді талдаудың қажетті шарты болып табылады. Микрочиптерде талдау жасау үшін 50 нг/мкл минимальді концентрация қажет. Бұл зерттеу ДНҚ алудың үш түрлі әдісін зерттеді, олардың саны, концентрациясы, тазалығы, тұтастығы және нақты уақыт режимінде ПТР-ға жарамдылығы жағынан қойлардың құлақ жұлындыларынан ДНҚ алудың салыстырмалы тиімділігін анықтау үшін. ДНҚ сапасы мен мөлшері кейіннен спектрофотометриялық өлшеулерді (NanoDrop), гель электрофорезіне негізделген нақты уақыттағы ПТР талдауы арқылы бағаланды. Сондай-ақ, өңдеу уақыты, күрделілігі және әр әдістің құны бағаланды. Зерттеу нәтижелеріне сәйкес, коммерциялық жиынтық арқылы экстракциялау қарапайым және қауіпсіз, бірақ қымбат, фенол-хлороформ әдісі және ДНҚ экстракциялаудың тұзға негізделген әдісі салыстырмалы түрде таза ДНҚ алу үшін өте тиімді. Осы соңғы екі әдісті салыстыра отырып, тұзға негізделген әдіс қауіпсіз болды. Қорытындылай келе, генотиптеу үшін тұзға негізделген әдіс таңдалғанын атап өткен жөн, өйткені коммерциялық әдіс қымбат, ал хлороформ әдісі аса қауіпті.

УДК 636.1:636.082.21

МРНТИ 68.39.71

DOI 10.56339/2305-9397-2022-2-2-68-77

Турабаев А., кандидат сельскохозяйственных наук, **основной автор**, <https://orcid.org/0000-0003-0231-5714>

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», г. Уральск, ул. Жангир хана, 51, 090009, Казахстан, turab66@mail.ru

Шәмшідін Ә.С., кандидат сельскохозяйственных наук, <https://orcid.org/0000-0001-5457-1720>

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», г. Уральск, ул. Жангир хана, 51, 090009, Казахстан, 270180@mail.ru

Айешева Г.А., кандидат экономических наук, <https://orcid.org/0000-0002-4443-5714>

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», г. Уральск, ул. Жангир хана 51, 090009, Казахстан, gulshat74@bk.ru

Turabayev A., candidate of agricultural sciences, **the main author**, <https://orcid.org/0000-0003-0231-5714>

NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir khan», Uralsk, st. Zhangir khan 51, 090009, Kazakhstan, turab66@mail.ru

Shamshidin A.S., candidate of agricultural sciences, <https://orcid.org/0000-0001-5457-1720>

NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir khan», Uralsk, st. Zhangir khan 51, 090009, Kazakhstan, 270180@mail.ru

Aiesheva G.A., candidate of economic sciences, <https://orcid.org/0000-0002-4443-5714>

NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir khan», Uralsk, st. Zhangir khan 51, 090009, Kazakhstan, gulshat74@bk.ru

РОДОСЛОВНАЯ ЖЕРЕБЦОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ НОВОГО ТИПА КУШУМСКОЙ ПОРОДЫ PEDIGREE OF STALLIONS OF NEW TYPE HORSES OF THE KUSHUM BREED

Аннотация

Совершенствование кушумских лошадей в направлении повышения живой массы,