

- 17 SHahov, A.G. Metodicheskie rekomendacii po ocenke i korrekcii nespecificheskoy rezistentnosti zhivotnyh / A.G. SHahov, YU.N. Brigadirov, A.I. Anufriev // Voronezh, 2005. – 62 s.
- 18 Antimikrobnoe dejstvie nekotoryh lekarstvennyh rastenij na patogennuyu mikrofloru [Tekst] / Zamanbekov, N.A. [i dr.] // International Scientific Conference «Global science and innovations». - 2019. - Vol. 10. - P. 339-342. (<https://ecir.kz/assets/docs/Proceedings%20GSI-5.pdf>)
- 19 Rafikova, E.R.. Acute Oral Toxicity of Vetom 21.77 Based on Duddingtonia Flagrans in Broiler Chickens [Text] / E.R. Rafikova // Macedonian Vet. Review. – 2019. – Vol.42.(1). – P. 87-93.
- 20 ZH.V. Vishnevec Ispol'zovanie lekarstvennyh rastenij v veterinarii [Tekst] / ZH.V. Vishnevec [i dr.] // Agrarnaya nauka sel'skomu hozyajstvu: Sb. mat. XIV-Mezhd. nauchno-praktich. konf. - Kniga 2. – Barnaul, 2019. - S. 269-271.
- 21 Boranbayeva, K. E. Comparative Pharmacotherapeutic effectiveness of Therapeutic Ointments in infectious Keratoconjunctivitis in cattle [Text] / K. E. Boranbayeva [and etc.] // Research J. Pharm. and Tech. 16(1): Januar 2023.-R.46-54.
- 22 Mawa, S. Phytochemistry Traditional Uses and Biological Activities [Text] / S. Mawa // Evid. Based Complement. Alternat. Med. – 2013. - R. 42-56.

РЕЗЮМЕ

Наиболее острой проблемой для молочных хозяйств по разведению и выращиванию крупного рогатого скота является до настоящего времени высокая заболеваемость новорожденных телят диспепсией. Поэтому разработка и применение новых препаратов, направленных на недопущение возникновения болезней у телят, должны основываться на данных течения иммунологических процессов в организме молодняка, так как устойчивость организма во многом зависит от состояния клеточно-гуморальных факторов резистентности организма животных.

В статье приводятся результаты исследований по применению фитопрепаратов на динамику клеточно-гуморальных факторов неспецифической резистентности организма телят, больных диспепсией. Полученные данные исследований свидетельствуют о стимулирующем действии фитопрепаратов на клеточно-гуморальные механизмы защиты организма телят. Под воздействием фитопрепаратов значительно повышаются уровни лизоцимной, бактерицидной, комплементарной и β -лизинной активности сыворотки крови, количественные показатели фагоцитарной активности клеток крови телят. Наиболее эффективным методом воздействия является использование фитопрепаратов в форме спиртовых экстрактов. Выявленные закономерности в позитивных изменениях гуморальных и клеточных механизмов защиты организма дает основание полагать, что у больных диспепсией телят имеет место иммунодефицитного состояния, сопровождающегося дисбалансом иммунной системы. Действие изготовленных фитопрепаратов направляется на биокоррекцию и бионормализацию метаболических процессов организма, которые достоверно подтверждаются существенным увеличением исследуемых показателей.

УДК: 577.2.08; 599.735.53
МРНТИ: 87.27.07; 34.15.05

DOI 10.52578/2305-9397-2024-3-1-20-32

Ульянов В.А., PhD, основной автор, <https://orcid.org/0000-0002-7500-1601>

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

Сидарова А.Ж., м.е.н., <https://orcid.org/0000-0001-8917-3570>

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

Бейшова И.С., д.б.н., ассоциированный профессор, <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

Кужебаева У.Ж., м.в.н., <https://orcid.org/0000-0002-7887-3376>

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», г. Уральск, ул. Жангир хана 51, 090009, Казахстан, usya_999@mail.ru

Гинаятов Н.С., PhD, <https://orcid.org/0000-0002-9608-002X>

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

Ulyanov V.A., PhD, the main author, <https://orcid.org/0000-0002-7500-1601>

NCJSC «Zhangir Khan West Kazakhstan Agrarian Technical University», Uralsk, Zhangir Khan street, 51, 090009, Kazakhstan, vadimkst@mail.ru

Sidarova A.Zh., Master of Natural Sciences, <https://orcid.org/0000-0001-8917-3570>

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

Beishova I.S., Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, <https://orcid.org/0000-0001-5293-2190>

NCJSC «Zhangir Khan West Kazakhstan Agrarian Technical University», Uralsk, Zhangir Khan street, 51, 090009, Kazakhstan, indira_bei@mail.ru

Kuzhebayaeva U.Zh., Master of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-7887-3376>

NCJSC «Zhangir Khan West Kazakhstan Agrarian Technical University», Uralsk, Zhangir Khan street, 51, 090009, Kazakhstan, usya_999@mail.ru

Ginayatov N.S., PhD, <https://orcid.org/0000-0002-9608-002X> NCJSC «Zhangir Khan West Kazakhstan Agrarian Technical University», Uralsk, Zhangir Khan street, 51, 090009, Kazakhstan, nginayatov@mail.ru

**ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ КОММЕРЧЕСКОГО МИКРОЧИПА ДЛЯ
SNP-ГЕНОТИПИРОВАНИЯ САЙГАКА (*SAIGA TATARICA TATARICA*) С ЦЕЛЬЮ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ
EVALUATION OF THE USE OF A COMMERCIAL MICROARRAY FOR SNP
GENOTYPING OF SAIGA (*SAIGA TATARICA TATARICA*) FOR THE
DETERMINATION OF GENETIC STRUCTURE**

Аннотация

В исследовании была предпринята попытка оценить генетическое разнообразие и структуру уральской популяции сайгака (*Saiga tatarica tatarica*) с использованием коммерчески доступного микрочипа для SNP-генотипирования. Генетическая характеристика популяции имеет ключевое значение для разработки эффективных мер по охране и восстановлению этого вида, который подвергается значительным экологическим и антропогенным угрозам. В качестве исходного материала для исследования использовались ушные выщипы, собранные у павших диких животных. Экстракция ДНК была выполнена с использованием коммерческого набора «PureLink Genomic DNA Mini Kit», что обеспечило достаточный уровень чистоты и концентрации ДНК для дальнейшего анализа. Качество выделенной ДНК оценивалось с помощью спектрофотометрии и электрофореза на агарозном геле, что позволило контролировать как концентрацию, так и целостность фрагментов ДНК.

Для проведения SNP-генотипирования был использован коммерческий микрочип Axiom™ Bovine-Ovine-Caprine Genotyping Array, разработанный для сельскохозяйственных видов. Процесс включал несколько стадий, таких как амплификация, фрагментация, гибридизация и сканирование с последующей обработкой данных. Однако, несмотря на соблюдение всех протоколов, полученные результаты оказались нечитаемыми из-за ограничений программного обеспечения производителя микрочипов, что связано с биологическими особенностями вида и несовместимостью используемых методик с немодельными организмами.

Важность данного исследования заключается в том, что оно подчеркивает необходимость разработки специализированных подходов к генетическому анализу немодельных видов, таких как сайгак, для успешной реализации стратегий по их сохранению. В будущем потребуются дальнейшая адаптация методов или разработка новых технологий для точной оценки генетического разнообразия этого вида.

ANNOTATION

The study attempted to assess the genetic diversity and structure of the Ural saiga population (*Saiga tatarica tatarica*) using a commercially available microarray for SNP genotyping. Genetic characterization of the population is of key importance for developing effective measures for the protection and restoration of this species, which is exposed to significant ecological and anthropogenic threats. Ear notches collected from dead wild animals were used as the biological material for the study. DNA extraction was performed using the commercial PureLink Genomic DNA Mini Kit, which ensured a sufficient purity and concentration of DNA for further analysis. The quality of the isolated DNA was assessed using spectrophotometry and agarose gel electrophoresis, which allowed monitoring of both the concentration and integrity of DNA fragments.

A commercially available Axiom™ Bovine-Ovine-Caprine Genotyping Array microarray developed for agricultural species was used for SNP genotyping. The process involved several steps such as amplification, fragmentation, hybridization, and scanning followed by data processing. However, despite following all protocols, the results obtained were unreadable due to limitations of the microarray manufacturer's software due to the biological characteristics of the species and the incompatibility of the techniques used with non-model organisms. The importance of this study is that it highlights the need to develop specialized approaches to the genetic analysis of non-model species, such as the saiga, for the successful implementation of conservation strategies. In the future, further adaptation of methods or the development of new technologies will be required to accurately assess the genetic diversity of this species.

Ключевые слова: *Saiga tatarica*, Уральская популяция, SNP, генотипирование, Axiom

Key words: *Saiga tatarica*, Ural population, SNP, genotyping, Axiom

Введение. Сайгаки – мигрирующие копытные животные, обитающие в регионах Евразии, включая Казахстан, Узбекистан, Россию и Монголию, некоторые популяции содержатся в полувольных условиях в Украине и Китае [1, 2]. В большей или меньшей степени каждая из этих популяций совершает сезонные миграции, направляясь на север к своим летним ареалам и на юг к зимним, в поисках благоприятных климатических условий и более плодородных пастбищ. В апреле 2024 года в Казахстане численность сайгака составила 2 833 000 особей, что означает увеличение на 48% по сравнению с предыдущим годом. Уральская популяция сайгаков, самая крупная в Казахстане, насчитывает 1 620 000 особей. Второй по численности является бетпакдалинская популяция с 1 150 000 особей. Самая малочисленная, устьюртская популяция, составляет всего 63 600 особи [3]. Сайгаки в целом являются мигрирующим видом, который подвержен массовой гибели, однако их высокая продуктивность способствует восстановлению популяций. Джут и болезни представляют два основных фактора, вызывающих массовую гибель животных [4, 5]. Также, браконьерство представляет постоянную угрозу, приводящую к резкому сокращению численности популяций [6, 7]. Учитывая, что самки сайгака в основном приносят двойни, данный факт позволяет популяциям быстро увеличивать свою численность после сокращения [8].

Генетическая структура играет ключевую роль в принятии решений, связанных с управлением популяциями, особенно в случае видов, находящихся под угрозой исчезновения. Существенным недостатком является отсутствие данных о последовательностях и генетическом полиморфизме, что серьезно затрудняет применение геномных подходов для решения биологических вопросов. К одному из малоисследованных видов относится сайгак (*Saiga*

tatarica), который является видом парнокопытных млекопитающих в подсемействе настоящих антилоп. Для оценки популяционных характеристик сайгаков необходим полногеномный анализ, способный выявить полиморфные маркеры.

За последнее десятилетие разработка и улучшение методов генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) привели к значительному прогрессу в их использовании, как молекулярных маркеров. Этот метод позволяет точно определить генетические характеристики популяций. Коммерчески доступные SNP-чипы эффективно обнаруживают полиморфизмы однонуклеотидных замен (SNP) у немодельных организмов, даже при применении их к очень отдаленным видам [9-12].

Разработка панели маркеров SNP может стать проблемой при работе с немодельными организмами (т.е. геномы которых еще не секвенированы), а также дороговизна и нерентабельность являются ограничивающими факторами для таких разработок. Одним из способов изучения SNP, не требующим обширного секвенирования, является использование коммерчески доступных чипов SNP, разработанных для родственных, хорошо изученных модельных видов. Панели SNP представляют собой микрочипы, специально настроенные для генотипирования известных локусов SNP и позволяющие оценивать тысячи таких локусов одновременно для двух аллелей. Чипы SNP сельскохозяйственных видов были использованы для идентификации SNP у близкородственных, немодельных видов. Например, Haynes G. D. и Latch E. K. провели исследование с помощью чипов Bovine SNP50 BeadChip, разработанный на крупном рогатом скоте (*Bos taurus*), для идентификации полиморфных SNP у оленей *Odocoileus hemionus* и *O. Virginianus* на северо-западе Тихого океана [13]. Подобно этому, Cino Pertoldi и др. [14] применили BovineSNP50 BeadChip, который изначально создавался для генотипирования крупного рогатого скота (*Bos taurus*), для анализа 2 209 полиморфных локусов у европейского бизона (*Bison bonasus*) и американских подвидов бизона (*B. bison bison* и *B. bison athabasca*), Tokarska, M. и др. [15] использовали BovineSNP50 BeadChip, созданный для крупного рогатого скота (*Bos taurus*), чтобы сделать вывод о структуре популяции зубра европейского (*Bos bonasus*) [15]. Харзинова В.Р. и др. успешно применили ДНК-чип, который изначально разрабатывался для генетического анализа крупного рогатого скота, для исследования генетических различий между разными породами северного оленя. Эти исследования позволили получить популяционно-генетическую характеристику трех пород северного оленя — чукотской (харгин), эвенской и эвенкийской, которые разводятся на территории Республики Саха (Якутия) [16].

Arsen V. Dotsev и др. использовали коммерческий ДНК-чип (Illumina Goat SNP50 BeadChip) в таксономических исследованиях кавказских туров (*Capra caucasica*) созданный для домашних коз (*Capra hircus*). Они успешно установили видовую принадлежность и происхождение группы и экотипа [17]. Также автор с соавторами изучили структуру популяции и оценили генетическое разнообразие снежного барана (*Ovis nivicola*) с помощью чипа OvineSNP50 BeadChip, созданного для домашних овец [18]. Miller J.M. и др. применяли OvineSNP50 BeadChip, разработанный для домашних овец, к двум родственным видам диких копытных: снежному барану (*Ovis canadensis*) и тонкорогому барану (*Ovis dalli*), также D.G. Medvedev с соавторами провели полногеномное исследование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) кодарского снежного барана для оценки генетической характеристики [19]. Использование геномных инструментов между разными видами может существенно расширить доступ исследователей к работе с немодельными организмами, минуя необходимость создания геномных библиотек для каждого из них [20].

Эти исследования подтверждают, что межвидовое применение коммерческих чипов SNP может стать успешной стратегией открытия SNP для немодельных организмов.

Целью нашего исследования было изучение генетического разнообразия и структуры популяции сайгака (*Saiga tatarica tatarica*) и получение информации, которая может быть использована при разработке стратегий сохранения.

Материалы и методы исследования. В качестве биоматериала для проведения исследований использовались ушные выщипы от павших диких животных Уральской популяции сайгаков.

Экстракция ДНК. Экстракция ДНК из тканей сайгаков была выполнена с использованием коммерческого набора «PureLink Genomic DNA Mini Kit» (Invitrogen, США) в лаборатории

биотехнологии и диагностики инфекционных болезней Испытательного центра НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана». Ранее нами была произведена сравнительная оценка разных коммерческих наборов для выделения нуклеиновых кислот из тканей сайгаков. Исследование показало, что для SNP-генотипирования высокой плотности, наиболее подходящими наборами реагентов являются комплекты «Tissue M» и «PureLink Genomic DNA Mini Kit» [21].

Концентрация ДНК была измерена с использованием анализатора Qubit 2.0 с набором для анализа Qubit dsDNA BR. Рабочие реагенты и калибровочные стандарты были приготовлены согласно инструкции производителя. Средняя концентрация ДНК составила 80 ng/ul. Для дальнейшего анализа все образцы были разбавлены до концентрации 17.2 нг/мкл с деионизированной водой.

SNP-генотипирование. SNP-генотипирование с широким покрытием генома представителей уральской популяций сайгака (*Saiga tatarica tatarica*) проведено с использованием универсального микрочипа для генотипирования крупного рогатого скота, овец и коз Axiom (Axiom™ Bovine-Ovine-Caprine Genotyping Array), на платформе Affymetrix (GeneTitan, Thermo Fisher Scientific, США) (рисунок 1). Микрочип содержит 54 560 SNP для крупного рогатого скота, 54 236 SNP для овец и 60 034 SNP для коз. Микрочип высокой плотности обеспечивает мощность и разрешение для широкого спектра применений в селекции животных и геномике, включая изучение ассоциации маркеров и признаков, оценку чистых линий и идентификацию многолинейных эталонных популяций, а также для полногеномного анализа ассоциаций (GWAS).

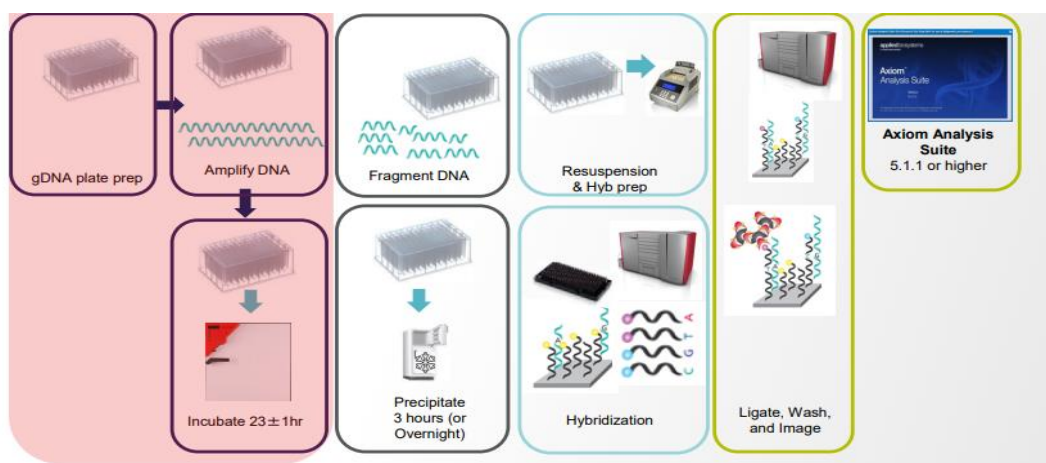


Рисунок 1 – Этапы проведения SNP-генотипирования на системе GeneTitan

Подготовка образцов ДНК для проведения SNP-генотипирования на системе GeneTitan включает в себя несколько этапов, включая амплификацию, фрагментацию, денатурацию, преципитацию и гибридизацию.

Амплификация ДНК. Разбавленные образцы ДНК (8.7мкл) были перенесены на 96-луночные планшеты. Заранее подготовленный мастер микс для денатурации был добавлен в равном объеме и инкубирован 10 минут при комнатной температуре. Затем было добавлено 56.6 мкл раствора для нейтрализации и 100.1 мкл мастер микса для амплификации. Далее, планшет амплифицировали при 37 градусах в течение 23 часов.

Фрагментация и преципитация. После завершения амплификации, планшет с образцами был инкубирован 20 минут при 65 °C и 45 минут при 37 °C. Затем добавляли мастер микс для фрагментации и инкубировали при 37 °C 30 минут. После этого было добавлено 8.3 мкл раствора для остановки фрагментации. Далее добавляли 365.4 мкл мастер микса для преципитации и инкубирован 24 часов при -20 °C. После окончания преципитации планшет центрифугировали при 4000 об/мин (3200g) 40 минут при температуре 4 °C. Надосадочную жидкость вылили и планшет с осадками высушивали 20 минут при 37 °C.

Гибридизация. Планшет с осадком был ресуспендирован заранее подготовленным миксом для гибридизации и был помещен на шейкер (Thermo Scientific Compact Digital Microplate Shaker)

на 15 минут. После этого все содержимое планшета было перенесено на плашку для гибридизации.

Перед тем как проводить гибридизацию, образцы были проверены на геле и спектрофотометре. Для этого были подготовлены 3 плашки: Dilution QC, Dilution OD and Gel Diluent (рисунок 2).

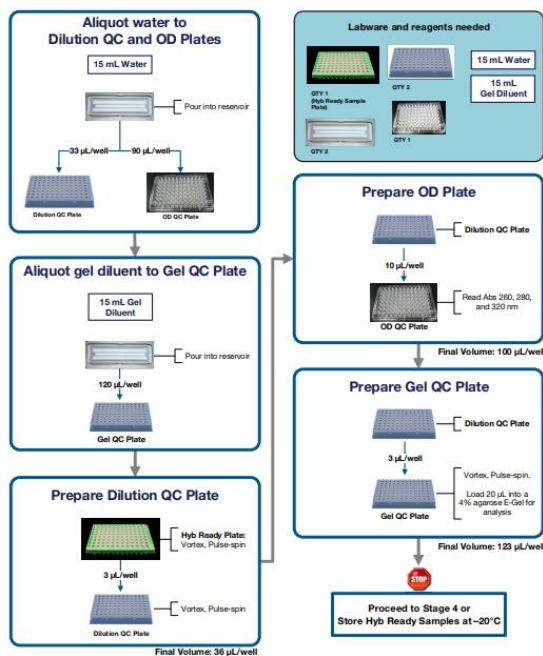


Рисунок 2 – Этапы контроля качества

3 мкл образца разбавляли в 33 мкл деионизированной воды (плашка Dilution QC). Затем 10 мкл Dilution QC разбавляли в 90 мкл деионизированной воды (плашка Dilution OD) и определяли концентрация каждого образца с помощью спектрофотометра Multiskan SkyHigh Microplate (Thermo Fisher Scientific).

В заранее подготовленной Gel Diluent плашке с 120 мкл геля-разбавителя добавили 3 мкл Dilution QC и проводили проверку на 4% агарозном геле (E-Gel®, Thermo Fisher Scientific), детекцию осуществляли в УФ-свете.

После проведения контроля качества денатурация была проведена согласно следующей программе: 95°C – 10 минут, далее 48°C – 3 мин. Затем все содержимое было перенесено в планшет для гибридизации (Hyb Tray) и сразу же загружено в генетический анализатор GeneTitan вместе с микрочипом Axiom™ Bovine-Ovine-Caprine Genotyping Array (Рисунок 3). Гибридизация проводилась при 48°C и продолжалась в течение 24 часов.

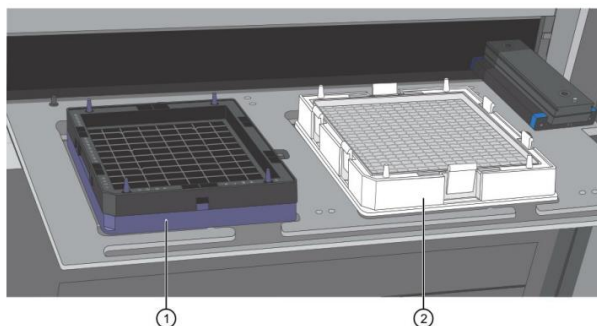


Рисунок 3 – Планшет с защитным синим основанием и лотком для гибридизации выровнен и правильно загружен в подложку № 6.

- 1 – планшет с микрочипом
- 2 – планшет для гибридизации

Лигирование, промывка и сканирование. За час до окончания гибридизации были подготовлены 6 планшетов: 3 планшета с красителем (Stain 1, Stain 1-2 and Stain2 Trays), планшет для стабилизации (Stabilization Tray), планшет для лигирования (Ligation Tray), планшет для сканирования. После окончания гибридизации все планшеты были помещены в генетический анализатор в соответствии с инструкцией. Лигирование и промывка проводилось 4 часа, затем сканирование в течении 1,5 часа.

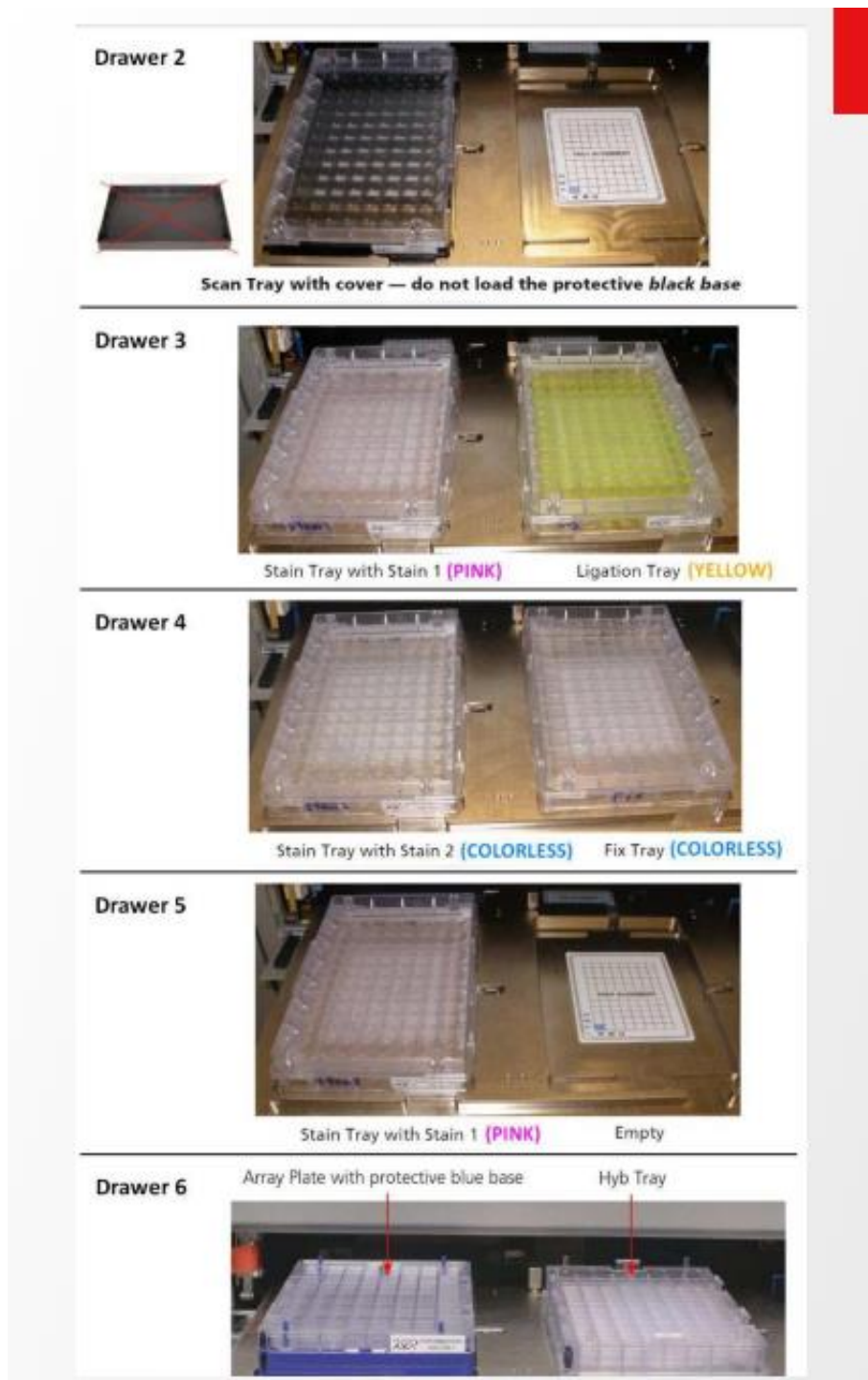


Рисунок 4 – Загрузка в GeneTitan

Подложка 2 – планшет для сканирования; Подложка 3 – планшет с красителем 1 и плашка для лигирования; Подложка 4 – планшет с красителем 2; Подложка 5 – планшет с красителем 1.

Результаты контроля качества. Перед гибридизацией, была проведена оценка качества образцов. Спектрофотометрический анализ используется для измерения концентрации и чистоты ДНК перед проведением SNP генотипирования. Оценка качества и концентрации ДНК важна, так как низкое качество или недостаточная концентрация образцов могут повлиять на точность и надежность генотипирования. Программа SkanIt, специализированная на оценке концентрации, использовалась в сочетании с спектрофотометром чтобы измерить концентрацию ДНК и оптическую плотность (рисунок 5). Для дальнейшего анализа допускались образцы со средним результатом 0.59 при длине волны 260 нм (A260), и 0.50 при длинах волн 260 нм и 320 нм (A260-A320).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0.7229	0.3693	0.7204	0.5875	0.7061	0.7464	0.7255	0.7947	0.4585	0.6811	0.8026	0.7374
Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1
0.7160	0.1776	0.7506	0.4902	0.6651	0.5867	0.6616	0.7532	0.7457	0.7103	0.8340	0.7581
Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1
0.6483	0.3060	0.3041	0.5553	0.5775	0.4012	0.6132	0.6915	0.6872	0.7178	0.5419	0.7068
Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1
0.6670	0.5602	0.3180	0.2758	0.6940	0.5535	0.6788	0.6203	0.7606	0.6431	0.3806	0.7111
Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1
0.6306	0.6319	0.7473	0.6919	0.6896	0.9792	0.8762	0.7923	0.1954	0.7413	0.7368	0.6382
Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1
0.6502	0.5495	0.5847	0.6294	0.7923	1.0386	1.9341	1.5596	0.7151	0.7262	0.7807	0.7780
Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1
0.6038	0.6009	0.7271	0.6385	0.7222	0.9051	1.2484	0.1480	1.0518	0.8420	0.7013	0.6599
Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1
0.5768	0.4812	0.6623	0.6181	0.6297	1.1369	1.7753	1.4876	1.3401	0.7646	0.8881	0.7073
Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1	Blank1

Рисунок 5 – Результаты оптическая плотность ДНК (A260)

Оценка качества фрагментов ДНК с использованием 4% агарозного геля проводилась в течение 22 минут. Визуальный анализ показал разделение фрагментов ДНК на геле в диапазоне от 125 до 25 п.н. Маркер 25bp ladder использовался для определения размеров фрагментов (рисунок 6).

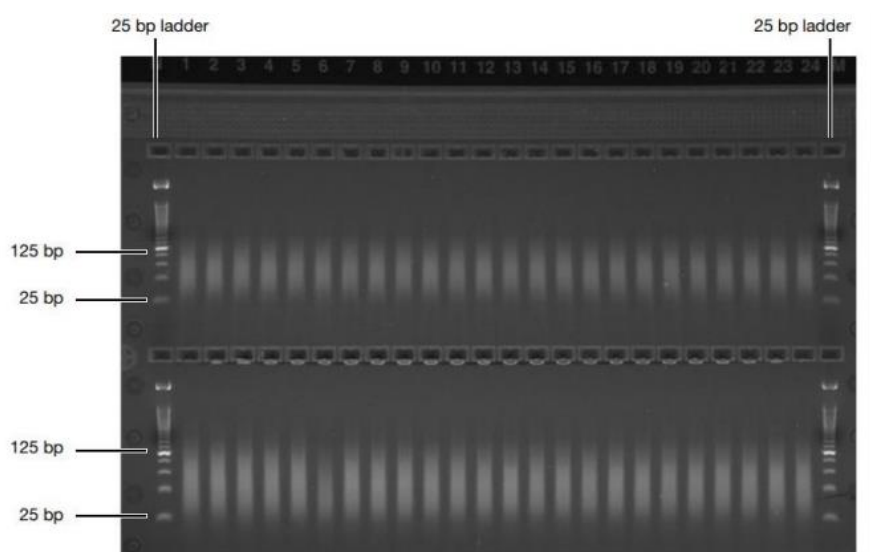


Рисунок 6 – Результат оценки качества ДНК в 4% агарозном геле

В процессе эксперимента все образцы прошли тщательный контроль качества. Средний уровень концентрации и чистоты ДНК соответствовал требованиям для SNP-генотипирования.

Процесс гибридизации и последующий анализ данных прошли успешно, что подтверждается высокими показателями качества полученных образцов.

Микрочип для генотипирования крупного рогатого скота-овцы-козы Axiom (Axiom Oviscap Agau) был разработан в рамках программы Affymetrix Expert Design. Микрочип включает однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), которые были идентифицированы Службой сельскохозяйственных исследований Министерства сельского хозяйства США (USDA ARS), Международным консорциумом по геномике овец (ISGC) и Международным консорциумом генома коз для каждого из трех различных видов (крупного рогатого скота) овцы и козы соответственно. Микрочип содержит 54 560 SNP для крупного рогатого скота, 54 236 SNP для овец и 60 034 SNP для коз. Микрочип высокой плотности обеспечивает мощность и разрешение для широкого спектра применений в селекции животных и геномике, включая изучение ассоциации маркеров и признаков, оценку чистых линий и идентификацию многолинейных эталонных популяций, а также для полногеномного анализа ассоциаций (GWAS).

Первичный (технический) контроль качества генотипических данных проведен с использованием программного обеспечения Axiom с учетом таких показателей, как частоты прочитанных и непрочитанных генотипов по образцам и маркерам, корректность кластеризации данных по маркерам. Образцы и маркеры, не удовлетворяющие критериям, исключались из дальнейшей работы (рисунок 7).

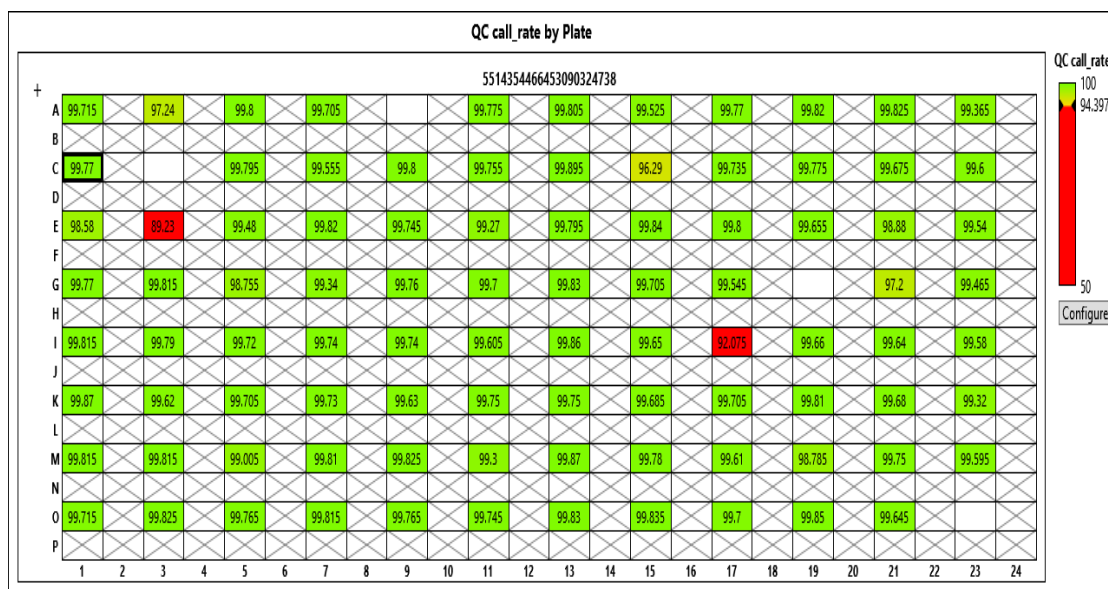


Рисунок 7 – Контроль качества генотипических данных (QC call rate)

В ходе исследования были выявлены некоторые сложности при использовании указанного коммерческого микрочипа для SNP-генотипирования на образцах уральской популяции сайгаков. Несмотря на следование стандартным протоколам, результаты генотипирования было невозможно прочесть из-за ограничений, установленных программным обеспечением. Обращения в службы поддержки производителя чипов, так же не дали результатов.

Эти результаты подчеркивают, что стандартные коммерческие чипы, разработанные для сельскохозяйственных видов, не всегда адаптированы для успешного генотипирования немодельных организмов, таких как сайгаки. Однако данное исследование предоставляет важный опыт и указывает на необходимость доработки методов для улучшения качества данных и надежности генотипирования.

Закключение. Несмотря на некоторые трудности, выявленные при использовании коммерческого микрочипа для SNP-генотипирования, данная работа подчеркивает важность дальнейшего развития методов и протоколов для работы с немодельными видами, такими как

сайгаки. Полученные данные, хотя и оказались отличными от ожидаемых, предоставляют основу для доработки подходов в будущем.

Для повышения эффективности генотипирования в будущем может потребоваться разработка более специализированных методов или адаптация существующих технологий к биологическим особенностям сайгаков. В дальнейшем исследования будут направлены на улучшение качества данных и повышение точности анализа генетической структуры популяций.

Эти исследования помогут создать научную базу для долгосрочных стратегий по сохранению и восстановлению популяций сайгака в условиях продолжающегося изменения климата и антропогенных воздействий.

Финансирование. Работа выполнена в рамках грантового финансирования молодых ученых по научным и (или) научно-техническим проектам на 2023-2025 годы, проекту ИРН AP19577569 «Молекулярно-генетический анализ генофонда казахстанских популяций *Saiga tatarica* на основе полногеномного SNP-генотипирования» (пер № 0123PK00054).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Grubb, P. Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference [Текст] / P. Grubb, D.E. Wilson, D.M. Reeder // Johns Hopkins University Press, Baltimore, USA. - 2005. – 688 p.
- 2 Glazer, G. An overview of the saiga antelope (*Saiga tatarica*) in captivity in Europe and the United States [Текст] / G. Glazer // Report commissioned by the Saiga Conservation Alliance for presentation at the Captive Breeding Workshop, Moscow. - 2017. – 19 p.
- 3 В Казахстане количество сайгаков приблизилось к трем миллионам особей [Электронный ресурс] // Tengrinews.kz. – 2024. - https://tengrinews.kz/kazakhstan_news/kazakhstan-kolichestvo-saygakov-priblizilos-trem-millionam-537079/
- 4 Kock, R.A. Saigas on the brink: multidisciplinary analysis of the factors influencing mass mortality events [Текст] / R.A. Kock, M. Orynbayev, S. Robinson [et al.] // Science Advances. – 2018. - V. 4. - eaa02314.
- 5 Aguilar, X.F. PPR Virus threatens wildlife conservation [Текст] / X.F. Aguilar, A.E. Fine, M. Pruvot [et al.] // Science – 2018 – V. 362 – P. 165–166.
- 6 Milner-Gulland, E.J. Dramatic declines in saiga antelope populations [Текст] / E.J. Milner-Gulland, M.V. Kholodova, A. Bekenov [et al.] // Oryx. - 2001. – V. 35(4). – P. 340–345.
- 7 Kühn, A. The role of saiga poaching in rural communities: linkages between attitudes, socio-economic circumstances and behavior [Текст] / A. Kühn, N. Balinova, E. Bykova [et al.] // Biological Conservation – 2009 – V. 142 – P. 1442–1449.
- 8 Milner-Gulland E.J. Устойчивое использование антилопы сайги: обзор и перспективы [Текст] / E.J. Milner-Gulland, P. Hughes, E. Быкова, B. Buuveibaatar, B. Chimeddorj, T. Каримова, A. Луцкекина, A. Салемгареев, S. von Meibom, S. Zuther. // Предварительный отчет для Конвенции ООН по сохранению мигрирующих видов диких животных и Федерального агентства по охране природы Германии. – 2020. – 127 p.
- 9 Eusebi, P.G. Genomic tools for effective conservation of livestock breed diversity [Текст] / P.G. Eusebi, A. Martinez, O. Cortes // Diversity. – 2020 – V. 12 – P. 8.
- 10 Yaro, M. Molecular identification of livestock breeds: A tool for modern conservation biology [Текст] / M. Yaro, K.A. Munyard, M.J. Stear [et al.] // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. – 2017 – V. 92 – P. 993–1010.
- 11 Olschewsky, A. An overview of the use of genotyping techniques for assessing genetic diversity in local farm animal breeds [Текст] / A. Olschewsky, D. Hinrichs // Animals (Basel) – 2021 – V. 11(7).
- 12 Kasarda R. Advances in genomic sequencing using Bovine SNP BeadChip in Deer [Текст] / R. Kasarda, N. Moravčíková, A. Trakovická // Acta Fytotechnica et Zootechnica. – 2014. – V. 17. – №. 2. – P. 65-71.
- 13 Haynes G.D. Identification of novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) in deer (*Odocoileus* spp.) using the BovineSNP50 BeadChip [Текст] / G.D. Haynes, E.K. Latch // PloS one. – 2012. – V. 7(5). – P. e36536.
- 14 Pertoldi C. Genome variability in European and American bison detected using the BovineSNP50 BeadChip [Текст] / C. Pertoldi, J.M. Wójcik, M. Tokarska, A. Kawalko, T.N. Kristensen,

V. Loeschcke, V.R. Gregersen, D. Coltman, G.A. Wilson, E. Randi, M. Henryon, C. Bendixen // Conservation genetics. – 2010. – V. 11. – P. 627-634.

15 Tokarska M. Effectiveness of microsatellite and SNP markers for parentage and identity analysis in species with low genetic diversity: the case of European bison [Текст] / M. Tokarska, T. Marshall, R. Kowalczyk, J.M. Wójcik, C. Pertoldi, T.N. Kristensen, V. Loeschcke, V.R. Gregersen, C. Bendixen // Heredity – 2009. – V. 103. – P. 326–332.

16 Харзинова В.Р. Популяционно-генетическая характеристика домашнего северного оленя в республике Якутия на основании полногеномного SNP анализа [Текст] / В.Р. Харзинова, А.В. Доцев, А.Д. Соловьева, В.И. Федоров, И.М. Охлопков, К. Виммерс, Х. Рейер, Г. Брем, Н.А. Зиновьева // Сельскохозяйственная биология. - 2017. – Т. 52(4). – С. 669-678.

17 Dotsev A.V. An assessment of applicability of snp chip developed for domestic goats in genetic studies of Caucasian tur (*Capra caucasica*) [Текст] / A.V. Dotsev, A.N. Rodionov, V.R. Kharzinova, S.N. Petrov, D.G. Medvedev, V.A. Bagirov, G. Brem, N.A. Zinovieva // Diversity. – 2021. – V. 13 (7). – P. 312.

18 Dotsev A.V. Genome-wide SNP analysis unveils genetic structure and phylogeographic history of snow sheep (*Ovis nivicola*) populations inhabiting the Verkhoyansk Mountains and Momsy Ridge (northeastern Siberia) [Текст] / A.V. Dotsev, T.E. Deniskova, I.M. Okhlopov, G. Mészáros, J. Sölkner, H. Reyer, K. Wimmers, G. Brem, N.A. Zinovieva // Ecology and Evolution. – 2018. – V. 8 (16). – P. 8000-8010.

19 Medvedev D.G. Genetic characteristics of Kodar snow sheep using SNP markers [Текст] / D.G. Medvedev, A.V. Dotsev, I.M. Okhlopov, T.E. Deniskova, H. Reyer, K. Wimmers, G. Brem, V.A. Bagirov, N.A. Zinovieva // Contemporary problems of ecology. – 2017. – V. 10. – P. 591-598.

20 Miller J.M. A genome-wide set of SNPs detects population substructure and long range linkage disequilibrium in wild sheep [Текст] / J.M. Miller, J. Poissant, J.W. Kijas, D.W. Coltman // Molecular ecology resources. – 2011. – V. 11 (2). – P. 314-322.

21 Ульянов В. Сравнение эффективности методов выделения днк из биологического материала сайгаков [Текст] / В. Ульянов, Э. Шәмшідін, И. Бейшова, Ж. Тлеуленов, Т. Ульянова, А. Сидарова, А. Абылгазинова, А. Ковальчук, Н. Гинаятов, и Е. Кырыкбаева. // Gylym žāne bilim. – 2023. – V. 3(72). – С. 144-159.

REFERENCES

1 Grubb, P. Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference [Текст] / P. Grubb, D.E. Wilson, D.M. Reeder // Johns Hopkins University Press, Baltimore, USA. - 2005. – 688 p.

2 Glazer, G. An overview of the saiga antelope (*Saiga tatarica*) in captivity in Europe and the United States [Текст] / G. Glazer // Report commissioned by the Saiga Conservation Alliance for presentation at the Captive Breeding Workshop, Moscow. - 2017. – 19 p.

3 In Kazakhstan, the number of saigas has approached three million individuals [Electronic resource] // Tengrinews.kz. – 2024. https://tengrinews.kz/kazakhstan_news/kazahstane-kolichestvo-saygakov-priblizilos-trem-millionam-537079/

4 Kock, R.A. Saigas on the brink: multidisciplinary analysis of the factors influencing mass mortality events [Текст] / R.A. Kock, M. Orynbayev, S. Robinson [et al.] // Science Advances. – 2018. - V. 4. - eaao2314.

5 Aguilar, X.F. PPR Virus threatens wildlife conservation [Текст] / X.F. Aguilar, A.E. Fine, M. Pruvot [et al.] // Science – 2018 – V. 362 – P. 165–166.

6 Milner-Gulland, E.J. Dramatic declines in saiga antelope populations [Текст] / E.J. Milner-Gulland, M.V. Kholodova, A. Bekenov [et al.] // Oryx. - 2001. – V. 35(4). – P. 340–345.

7 Kühl, A. The role of saiga poaching in rural communities: linkages between attitudes, socio-economic circumstances and behavior [Текст] / A. Kühl, N. Balinova, E. Bykova [et al.] // Biological Conservation – 2009 – V. 142 – P. 1442–1449.

8 Milner-Gulland E.J. Sustainable use of the saiga antelope: review and prospects [Text] / E.J. Milner-Gulland, P. Hughes, E. Bykova, B. Buuveibaatar, B. Chimeddorj, T. Karimova, A. Lushchekina, A. Salemgareev, S. von Meibom, S. Zuther. // Preliminary report for the UN

Convention on the Conservation of Migratory Species of Wild Animals and the Federal Agency for Nature Conservation of Germany. – 2020. – 127 p.

9 Eusebi, P.G. Genomic tools for effective conservation of livestock breed diversity [Текст] / P.G. Eusebi, A. Martinez, O. Cortes // Diversity. – 2020 – V. 12 – P. 8.

10 Yaro, M. Molecular identification of livestock breeds: A tool for modern conservation biology [Текст] / M. Yaro, K.A. Munyard, M.J. Stear [et al.] // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. – 2017 – V. 92 – P. 993–1010.

11 Olschewsky, A. An overview of the use of genotyping techniques for assessing genetic diversity in local farm animal breeds [Текст] / A. Olschewsky, D. Hinrichs // Animals (Basel) – 2021 – V. 11(7).

12 Kasarda R. Advances in genomic sequencing using Bovine SNP BeadChip in Deer [Текст] / R. Kasarda, N. Moravčíková, A. Trakovická // Acta Fytotechnica et Zootechnica. – 2014. – V. 17. – №. 2. – P. 65-71.

13 Haynes G.D. Identification of novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) in deer (*Odocoileus* spp.) using the BovineSNP50 BeadChip [Текст] / G.D. Haynes, E.K. Latch // PloS one. – 2012. – V. 7(5). – P. e36536.

14 Pertoldi C. Genome variability in European and American bison detected using the BovineSNP50 BeadChip [Текст] / C. Pertoldi, J.M. Wójcik, M. Tokarska, A. Kawalko, T.N. Kristensen, V. Loeschcke, V.R. Gregersen, D. Coltman, G.A. Wilson, E. Randi, M. Henryon, C. Bendixen // Conservation genetics. – 2010. – V. 11. – P. 627-634.

15 Tokarska M. Effectiveness of microsatellite and SNP markers for parentage and identity analysis in species with low genetic diversity: the case of European bison [Текст] / M. Tokarska, T. Marshall, R. Kowalczyk, J.M. Wójcik, C. Pertoldi, T.N. Kristensen, V. Loeschcke, V.R. Gregersen, C. Bendixen // Heredity – 2009. – V. 103. – P. 326–332.

16 Kharzinova V.R. Population-genetic characteristics of domestic reindeer in the Republic of Yakutia based on whole-genome SNP analysis [Text] / V.R. Kharzinova, A.V. Dotsev, A.D. Solovieva, V.I. Fedorov, I.M. Okhlopov, K. Wimmers, H. Reyer, G. Brem, N.A. Zinovieva // Agricultural biology. – 2017. – V. 52 (4). – P. 669-678.

16 Harzinova V.R. Populyacionno-geneticheskaya harakteristika domashnego severnogo olenya v respublike YAkutiya na osnovanii polnogenomnogo SNP analiza [Tekst] / V.R. Harzinova, A.V. Docev, A.D. Solov'eva, V.I. Fedorov, I.M. Ohlopov, K. Vimmers, H. Rejer, G. Brem, N.A. Zinov'eva // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. – 2017. – T. 52(4). – S. 669-678.

17 Dotsev A.V. An assessment of applicability of snp chip developed for domestic goats in genetic studies of Caucasian tur (*Capra caucasica*) [Tekst] / A.V. Dotsev, A.N. Rodionov, V.R. Kharzinova, S.N. Petrov, D.G. Medvedev, V.A. Bagirov, G. Brem, N.A. Zinovieva // Diversity. – 2021. – V. 13 (7). – P. 312.

18 Dotsev A.V. Genome-wide SNP analysis unveils genetic structure and phylogeographic history of snow sheep (*Ovis nivicola*) populations inhabiting the Verkhoyansk Mountains and Momsky Ridge (northeastern Siberia) [Tekst] / A.V. Dotsev, T.E. Deniskova, I.M. Okhlopov, G. Mészáros, J. Sölkner, H. Reyer, K. Wimmers, G. Brem, N.A. Zinovieva // Ecology and Evolution. – 2018. – V. 8 (16). – P. 8000-8010.

19 Medvedev D.G. Genetic characteristics of Kodar snow sheep using SNP markers [Tekst] / D.G. Medvedev, A.V. Dotsev, I.M. Okhlopov, T.E. Deniskova, H. Reyer, K. Wimmers, G. Brem, V.A. Bagirov, N.A. Zinovieva // Contemporary problems of ecology. – 2017. – V. 10. – P. 591-598.

20 Miller J.M. A genome-wide set of SNPs detects population substructure and long range linkage disequilibrium in wild sheep [Tekst] / J.M. Miller, J. Poissant, J.W. Kijas, D.W. Coltman // Molecular ecology resources. – 2011. – V. 11 (2). – P. 314-322.

21 Ulyanov V. Comparison of the effectiveness of methods for extracting DNA from biological material of saigas [Text] / V. Ulyanov, A. Shamshidin, I. Beishova, Zh. Tleulenov, T. Ulyanova, A. Sidorova, A. Abylgazinova, A. Kovalchuk, N. Ginayatov, and E. Kyrykbaeva. // Ғылым және білім. – 2023. – V. 3(72). – pp. 144-159.

ТҮЙІН

Зерттеуде коммерциялық қолжетімді SNP генотиптеу микрочипін пайдалана отырып, Орал киік популяциясының (*Saiga tatarica tatarica*) генетикалық әртүрлілігі мен құрылымын бағалауға

тырыстық. Популяцияның генетикалық сипаттамасы маңызды экологиялық және антропогендік қауіпке ұшыраған осы түрді сақтау және қалпына келтірудің тиімді шараларын әзірлеудің кілті болып табылады. Зерттеудің биологиялық материалы ретінде өлген жабайы жануарлардан жиналған құлақ ені пайдаланылды. ДНҚ-ның экстракциясы коммерциялық «PureLink Genomic DNA Mini Kit» көмегімен бөлініп, ол әрі қарай талдау үшін жеткілікті ДНҚ тазалығы мен концентрациясын қамтамасыз етті. Бөлінген ДНҚ сапасы спектрофотометрия және агарозды гель электрофорезі арқылы бағаланды, бұл ДНҚ фрагменттерінің концентрациясын да, тұтастығын да бақылауға мүмкіндік берді.

SNP генотиптеуін жүргізу үшін ауылшаруашылық жануар түрлеріне арналған коммерциялық Axiom™ Bovine-Ovine-Caprine Genotyping Array микрочипі пайдаланылды. Процесс амплификация, фрагментация, гибридизация және сканерлеу сияқты бірнеше кезеңдерді қамтыды, содан кейін деректері өңделді. Алайда, барлық хаттамалардың сақталуына қарамастан, алынған нәтижелер микрочип өндірушісінің бағдарламалық жасақтамасының шектеулеріне байланысты оқылмайтын болып шықты, бұл түрдің биологиялық ерекшеліктерімен және қолданылатын әдістердің модельдік емес организмдермен үйлесімсіздігімен байланысты.

Бұл зерттеудің маңыздылығы – табиғатты сақтау стратегияларын сәтті жүзеге асыру үшін киік сияқты модельді емес түрлердің генетикалық талдауының мамандандырылған тәсілдерін әзірлеу қажеттілігін көрсетеді. Болашақта осы түрдің генетикалық әртүрлілігін нақты бағалау үшін әдістерді одан әрі бейімдеу немесе жаңа технологияларды дамыту қажет болады.

УДК: 636.09:619/.2(045)
МРНТИ 68.41.37, 68.41.39

DOI 10.52578/2305-9397-2024-3-1-32-41

Есжанова Г. Т., кандидат ветеринарных наук, доцент, **основной автор**, <https://orcid.org/0000-0001-8411-466X>

НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет им. С.Сейфуллина, г. Астана, пр. Победы, 62, 010000, Казахстан, yeszhanova-astana@mail.ru

Лидер Л.А., кандидат ветеринарных наук, доцент, <https://orcid.org/0000-0001-5842-0751>

НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина, г. Астана, пр. Победы, 62, 010000, Казахстан, l.lider@kazatu.kz

Ускенов Р. Б., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, <https://orcid.org/0000-0003-2163-2392>

НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет им. С.Сейфуллина, г. Астана, пр. Победы, 62, 010000, Казахстан, ruskenov@mail.ru

Бостанова С. К., кандидат сельскохозяйственных наук, <https://orcid.org/0000-0001-6661-8362>

ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А.И.Бараева, Акмолинская область, Шортандинский район, п. Научный, ул. Бараева, д.15, 020000, Казахстан, bostanova_sk@mail.ru

Мамытбекова Г. К., магистр ветеринарных наук, <https://orcid.org/0000-0002-3866-5003>

«НАО «Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, г. Астана, пр. Победы, 62, 010000, Казахстан, gulnur4284@mail.ru

Есимханов М. Б., магистрант, <https://orcid.org/0009-0008-8384-3308>

НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина, г. Астана, пр. Победы, 62, 010000, Казахстан, Spartmad@gmail.com

Yeszhanova G., Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, **the main author**, <https://orcid.org/0000-0001-8411-466X>

NJSC «S. Seifullin Kazakh Agrotechnical research University», Astana, av. Victory 62, 010000, Kazakhstan, yeszhanova-astana@mail.ru

Lider L., Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, <https://orcid.org/0000-0001-5842-0751>

NJSC «S. Seifullin Kazakh Agrotechnical research University», Astana, av. Victory 62, 010000, Kazakhstan, l.lider@kazatu.kz