

ӨЖ 636.234.1:636.082:57.017.53:577.21
FTAXP 68.41.57

DOI 10.52578/2305-9397-2024-4-1-14-25

Шорманова М. М., ветеринария ғылымдарының магистрі, негізгі автор, <https://orcid.org/0000-0002-2528-2804>

Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы қ., Абай даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Койбағаров К. У., ветеринария ғылымдарының кандидаты, <https://orcid.org/0000-0002-5639-1798>

Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы қ., Абай даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Тургумбеков А. А., PhD доктор, <https://orcid.org/0000-0001-6205-909X>

Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы қ., Абай даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Усенбеков Е. С., биология ғылымдарының кандидаты, <https://orcid.org/0000-0001-9508-4179>

Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы қ., Абай даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Shormanova M. M., Master of Veterinary Sciences, the main author, <https://orcid.org/0000-0002-2528-2804>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Koibagarov K. U., Candidate of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-5639-1798>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Turgumbekov A.A., Master of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0001-6205-909X>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Ussenbekov Y.S., Candidate of Biological Sciences, <https://orcid.org/0000-0001-9508-4179>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

БҰҚАЛАРДЫ TNP2 ЖӘНЕ SPEF2 ГЕН ЛОКУСТАРЫ БОЙЫНША ГЕНОТИПТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОСЫ ГЕН АЛЛЕЛДЕРІНІҢ БҰҚАНЫҢ РЕПРОДУКТИВТІК ҚЫЗМЕТІНЕ ӘСЕРІ

RESULTS OF GENOTYPING OF BULLS THE TNP2 AND SPEF2 GENE LOCISES AND THE INFLUENCE OF THESE GENE ALLELES ON THE REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF BULLS

Аннотация

Мақала авторлары TNP2, SPEF2 ген локустары бойынша бұқаларға генотиптеу жұмыстарын полимераздық тізбек реакция және рестиктелген фрагменттер ұзындықтарының полиморфизмі әдістерін қолдана отырып жүргізген. Барлығы 66 ДНҚ үлгісі TNP2 генінің локусы (g.269 G→A, g.1536 C→T SNP полиморфизмдері) бойынша генотиптелген және 161 ДНҚ үлгісі SPEF2 генінің локусы бойынша анықталған. Зерттеу нәтижелері зерттелген бұқаларда TNP2 генінің локусында (g.269 G→A) генетикалық полиморфизмнің жоқтығын анықтады, ал TNP2 генінің (g.1536 C→T SNP) полиморфизмі генетикалық полиморфизмін бар екені анықталған, оларда TNP2 г.1536 C→T SNP полиморфизмі бойынша CC, CT, TT генетикалық нұсқалары анықталды. «Асыл Түлік» АҚ қарасты бұқалардың репродуктивті қызметіне 2018-2022 жылдар аралығына талдау жасалды және репродуктивті қызметі жоғары аталық бұқалар анықталды. Бұқалардың жыныстық функциясының келесі параметрлері бағаланды: алынған эякулят көлемі, сперматозоидтардың белсенділігі, сперматозоидтардың концентрациясы, алынған сперматозоидтар дозаларының саны. Эякуляттың орташа көлемі гетерозиготикалық TG генотипі (SPEF2 гендік локус) бұқаларда болды және ол 4,95 мл болды, алынған сперматозоидтар дозасының саны бір аталық бұқаға есептегенде 307,8 құрады. Дегенмен, көрсетілген генотипі бар аталықтардың сперматозоидтар белсенділігі мен эякулятағы сперматозоидтар концентрациясының

көрсеткіштері төмен болды. Осы көрсеткіш бойынша GG, TT гомозиготалы генотиптері бар аталықтардың сандық мәндері жоғары болды (сперматозоидтар белсенділігі тиісінше 6,99 және 6,63), сперматозоидтар концентрациясы (1,0 және 0,96 млрд/мл). Осылайша, SPEF2 генінің кодтау бөлігінде орналасқан SNP полиморфизмін бұқалардың репродуктивті функциясының ДНҚ маркерлері ретінде қарастыруға болады.

ANNOTATION

The authors of the article carried out work on genotyping of bulls by the loci of the TNP2 and SPEF2 genes using polymerase chain reaction methods in combination with restriction fragment length polymorphism. 66 DNA samples by the locus of the TNP2 gene (g.269 G→A, g.1536 C→T SNP polymorphisms) and 161 DNA samples by the locus of the SPEF2 gene were genotyped. The results of the study established the absence of genetic polymorphism at the locus of the TNP2 gene (g.269 G→A) in the studied bulls, revealed genetic polymorphism of the TNP2 gene (g.1536 C→T SNP) and identified genetic variants CC, CT, TT at this locus TNP2 g.1536 C→T SNP. The analysis of the reproductive function of bulls of JSC Asyl Tulik for the period from 2018 to 2022 was carried out and bulls with high reproductive function indicators were identified. The following parameters of the reproductive function of bulls were assessed: volume of ejaculate obtained, sperm activity, sperm concentration, number of sperm doses obtained. The average large volume of ejaculate was in bulls with heterozygous genotype TG (SPEF2 gene locus) and amounted to 4.95 ml, the number of sperm doses obtained was 307.8 per bull. However, bulls with the specified genotype had lower indicators of sperm activity, sperm concentration in the ejaculate. According to this indicator, bulls with homozygous genotypes GG, TT had higher digital values (sperm activity 6.99 and 6.63, respectively), sperm concentration (1.0 and 0.96 billion / ml). Thus, SNP polymorphism localized in the coding part of the SPEF2 gene can be considered as DNA markers of reproductive function in bulls.

Түйін сөздер: бұқаның репродуктивтік қызметі, TNP2, SPEF2 гендері, голштин тұқымдас, қазақтың ақ бас тұқымдас, ДНҚ маркерлері, ПТР-РФҰП, Primer 3 бағдарламасы.

Key words: reproductive function of breeding bulls, TNP2, SPEF2 genes, Holstein breed, Kazakh white-headed breed, DNA markers, PCR-RFLP, Primer program.

Кіріспе. Көшпелі ақуыз 2 (Transition protein 2 - TNP2) нуклеогистондарды спермиогенез кезінде сперматид ядросының бастапқы конденсациясының қалыптасуына қатысады. Ғалымдар TNP2 генінің нұсқалары мен бұқа шәуетінің сапасымен байланысын зерттеген. Тексерілген 392 бас бұқаларда үш SNP полиморфизмдер бар екені анықталған, олар келесі g.269 G.A (экзон 1), g.480 C.T (интрон 1) және g.1536 C.T (3'-UTR бөлігінде) орналасқан полиморфизмдер. Аталған SNP полиморфизмдер бойынша түзілген H6H4, H6H6 және H6H8 гаплотиптік комбинациялары бар бұқаларда H7H8 генотиптеріне қарағанда спермийлердің белсенділігі жоғары болған (P,0,05). Биоинформатикалық талдау көрсеткеніндей g.1536 C.T полиморфизмі TNP2 генінің 3'-UTR фланкирлеу бөлігінде орналасқан. Нақты уақыттағы полимеразды тізбекті реакцияның сандық нәтижелері бойынша TNP2 генінің мРНК түзілу дәрежесі генотиптері CT және CC генотиптері бар бұқаларда ген экспрессиясы TT гомозиготалы генотипі бұқаларға қарағанда айтарлықтай жоғары болған (P,0,05) [1]. Сонымен, (TNPs) көшпелі ақуыз спермиогенез үрдісінде хроматин конденсациясы кезінде аса маңызды, сондықтан олар спермийлердің қозғалғыштығының маркерлерін анықтауға үміткер гендер болып табылады. Ген тізбектерін талдау нәтижесінде TNP1 генінің 3'-UTR аймағындағы «G» нуклеотидінің және TNP2 генінің интрондық аймағында C>T SNP делециясы анықталған. C>T SNP полиморфизмі асыл тұқымды ірі қара малдың бастапқы прогрессивті қозғалғыштығына (p<0,05) және жалпы ірі қара мал популяциясында қатырылған шәуетті ерігеннен кейінгі қозғалғыштығына айтарлықтай әсер еткен [2].

Өндіріс жағдайында бұқалардың ұрық сапасын мүмкіндігінше жылдам анықтау аса маңызды. Көптеген зерттеулер SNP полиморфизм локустарының нұсқалары болуы мүмкін екенін көрсетеді және оларды селекцияда генетикалық маркерлер ретінде тиімді қолдануда. Ресей ғалымдарының зерттеулерінде ФСГ рецепторы генінің кейбір генотиптерінің бұқалардың шәует көрсеткіштерімен байланыстары анықталған: эякулят көлемі, оның концентрациясы және спермийлердің жалпы саны. Келесі SNP полиморфизмдер бойынша FSHR, INHA, INHAB, PRL,

TNP2, SPEF2 генотиптеу жұмыстары жүргізілген және 189 бұқалар бойынша фенотиптік деректер жиналған. Зерттеу тобындағы бұқаларда PRL гені бойынша генетикалық полиморфизм анықталмаған, ал FSHR локусы бойынша ($p < 0,05$) ассоциациялары эякуляция көлемі, концентрациясы және спермийлердің жалпы санымен байланысы дәлелденген, INHA ген локусы бойынша эякулят концентрациясымен айтарлықтай байланысты болды ($p < 0,05$). Эякуляттың көлемі мен жалпы саны көрсеткіштері мен TNP2, SPEF2 ген локустары бойынша шауыт сапасымен маңызды байланыстар ба екені анықталған [3]. TNP2 ген локусы бойынша генетикалық полиморфизмдерді анықтау жұмыстары 1528 бас Үнді мемлекетінің жергілікті тұқымдас бұқаларында жүргізілген. TNP2 геніне арналған праймерлердің үш жиынтығы Primer3 көмегімен жасалып, ұзындықтары 459 ж.н., 483 ж.н., 484 ж.н. ПТР өнімдері алынған. Үндістандағы ірі қара мал тұқымдарында SNP талдауы үшін ПТР-РФҰП әдісі қолданылған, нәтижесінде келесі g. 480 C>T, g. 1536 C>T, g. 480 C>T, g. 1536 C>T, полиморфизмдер зерттелген [4].

Сүт коректілерде дөңгелек сперматидтердің морфологиялық құрылымы күрделі, физиологиялық және биохимиялық өзгерістерге ұшырау нәтижесінде Круглые сперматиды млекопитающих имеют сложную морфологическую пісіп жетілген сперматозоидтар түзіледі. Ұзарып және конденсириалауға ұшыраған сперматидтерде соматикалық хроматин кең көлемдегі реструктуризацияға ұшырайды. Нуклеогистондар алдымен аргинин- және құрамында лизин ақзаты көп формаға ауысады, олар басқаша көшпелі ақзаттар деп (TNP) атиалады, үрдіс соңында осы ақзаттар протаминге айналады [5] және сонымен транскрипция үрдісі аяқталады. Сосын нуклеосом түріндегі хроматин трансформацияға ұшырап, жұмсақ талшыққа айналады және хроматиннің конденсация үрдісі басталады [6]. Көшпелі ядролық ақзаттар (TNP), конденсацияланатын сперматидтердің хроматинінде кездесетін негізгі ақзаттар, сүткоректілерде сперматогенез үрдісі кезінде гистонның ығысуы және хроматин конденсациясы үшін маңызды екені дәлелденді. TNP-1 ген тізбегін талдау нәтижесінде, оның интрондық бөлігінде 205, 340 және 346 ж.н. тұратын 3 SNPs полиморфизмдері анықталды. Бұл полиморфизмнің варианттары спермийлердің жеке қозғалғыштығына, жалпы белсенділігіне және жетілуіне әсері анықталған [7].

Сперматозоидтардың дифференцировкаға ұшырауының соңғы сатысында мРНҚ көптеген ақзаттарды кодтау үшін түзіле бастайды. Осылай түзілген ақзаттар дөңгелек сперматидтерге трансформация жасай бастайды. Сперматидтердің ұзындау формасына, түзілген ақзаттар бес тәулік бойы инертті формада сақталады. Сонымен (TNP1 және TNP2) көшпелі ақзаттарын түзілуін қамтамасыз ететін мРНҚ 1 және 2 ақзаттар мен 1 және 2 протаминдердің түзілуін қамтамасыз етеді (PRM1 и PRM2). PRM1, PRM2 және TNP2 гендерінің ірі қара малының хромосомаларында орналасуы анықталған [8]. TNP2 ген локусы бойынша бұқалардың генотипін анықтау жұмыстары Қазақстан ғалымдарымен жүргізілген, осы мақсатта ПТР РФҰП тәсілдері қолданылған [9].

Көшпелі ядролық ақуыздар (TNP1, TNP2) сперматогенез кезінде соматикалық гистондарды алмастыратын негізгі ядролық ақуыздар болып табылады. TNP қалыпты сперматогенезді қолдау үшін қажет. TNP1 гені құрамындағы g.-688A>T полиморфизмі және TNP2 гені құрамындағы g.1030G>A полиморфизмдері мен ер адамдардағы эякуляттағы спермийлердің фертилігі арасында байланыс бар екені Үнді елінің ғалымдарымен анықталған. Гаплотиптердің ассоциациясының талдауы азооспермия бар TNP1 геніндегі SNPs үшін маңызды омнибус байланысын (omnibus $\chi^2=7,87$, $p=0,0195$) көрсетті. GCG (H3) гаплотипінің жиілігі азооспермді еркектерде (53,1%) фертильді еркектермен салыстырғанда жоғарылады (43%; $\chi^2=7,964$, $p=0,005$) [10]. Ғалымдар TNP-1 генінің жалпы 1568 ж.н. тұратын аймағын және 490 ж.н. тұратын промоторлық бөлігін, екі экзон және бір интрон бөліктерін секвенирленген. Зерттелетін фрагментте 3 ТАТА және 2 СААТ қайталанулары анықталған. Қытайлық голштейн тұқымында g.528G>A, SS1388116558) полиморфизмі анықталған және оны зерттеу үшін ПТР-РФҰП тәсілдері қолданылған [11]. Қазіргі таңда бұқалардың TNP2 ген локусы (g.269 G→A) бойынша генотиптерін әдебиетте көрсетілген әдіс бойынша анықтайды, сол мақсатта келесі праймерлер тізбектерін қолданады: тура F 5' - CAGAGCCTTCCCAACACCC - 3' және кері R 5' – GCTGGGGCCTGGGCTCTGG - 3' праймерлер [12]. Сонымен қатар ДНҚ үлгілерінің TNP2 (g.269 G→A) гені бойынша амплификация жүргізу үшін келесі праймер тізбектерін қолданады: тура

F 5' - ACACCAAGACACAGAGCCTT - 3' және кері R 5' - TTGTACACCTGCTTGCTCCT - 3'. Қолданылып жүрген праймерлер кемшіліктерін ескере отырып, TNP2 g.269 G→A полиморфизмін анықтауға Primer 3 бағдарламасын пайдалан отырып жоғарыда көрсетілген праймерлер тізбектері анықталды және праймерлер көмегімен ұзындығы 358 ж.н. тұратын амплификат алынды. Үлгінің генетикалық вариантын анықтау үшін HpaII рестриктазасы қолданылды, гетерозиготалы GA генотипті сынамаларда: 146 ж.н., 33 ж.н., 179 ж.н., 212 ж.н. фрагменттері, гомозиготалы AA генотипте 146 ж.н., 212 ж.н., екінші гомозиготалы GG генотипті бұқаларда 146 ж.н., 33 ж.н., 179 ж.н. фрагменттер пайда болды [13].

SPEF2 (sperm flagella 2) гені аталық торшалардың түзілуінде ерекше маңызды роль атқарады және спермийлер белсенділігінің негізгі факторы болып саналады. Сонымен SPEF2 генінің экспрессиясы аталық торшаларда, Сертоли торшаларында, ұзартылған спермийлердің құйрық бөліктерінде, пісіп жетілген спермийлердің құйрық бөліктерінде болатыны көрсетілген [14]. Ғалымдардың зерттеулеріне сәйкес еркек қабандарда SPEF2 генінің 30 интрондық бөлігінде кездесетін диссеминирленген элемент (L1) спермийлердің қозғалтқыштығын жоятыны анықталған. Жалпы шошқа популяциясында кездесетін осы зиянды мутацияның SPEF2 гені құрамындағы себебі, ол сол бір туған төлдер санының жоғары болуы белгісімен тығыз байланысты [15]. Тура осындай белгімен байланыс және ешкілерде де анықталған [16], бірақ мутацияның текелердің шәуетінің қозғалтқыштығымен байланысы зерттелмеген. SPEF2 гені құрамындағы мутация, спермийлердің қозғалтқыштығын жояды және ол тышқандарда сперматогенез үрдісін бұзады [15]. Спермийлердің құйрық бөлігінде кездесетін көптеген ақаулар жиі SPEF2 гені экспрессиясы нәтижесінде түзілетін ақаумен түзілген ақзаттармен тығыз байланысты, осы құбылыс жиі ер адамдарда кездеседі [17]. Отандық ғалымдар сонымен қатар, асыл тұқымды бұқаларда генетикалық ақаулардың таралуын зерттеген, балау әдістерін жетілдірген [18]. Голштейн тұқымдас сиырларда репродуктивтік қызметпен байланысты SNP полиморфизмдер және желінсауға төзімділікпен байланысты SNP полиморфизмдер туралы зерттелер жүргізілген, пайдалы белгілермен байланысты, ауруларға резистенттілікті қамтамасыз ететін ген локустарын зерттеу аса маңызды [19,20,21].

Зерттеу жұмысының мақсаты асыл тұқымды бұқаларда TNP2, SPEF2 ген локустары бойынша генотиптеу жүргізу, оларда осы ген локустары бойынша генетикалық варианттардың таралуын және ген аллелдерінің бұқалардың репродуктивтік қызметіне әсерін зерттеу болып табылады.

Материалдар мен зерттеу әдістері. Зерттеу тобындағы асыл тұқымды бұқалардың күре тамырынан немесе құйрық венасынан құрамында ЭДТА антикоагулянт бар, көлемі 2,0 мл вакуумдық пробиркаларға қан үлгілері алынды. Алынған қан үлгілерін ДНҚ бөліп алғанға дейін тоңазытқышта минус 16-18 градуста қатырып ұстадық. TNP2 ген локусы бойынша ДНҚ үлгілерін генотиптеу жұмыстары келесі ретпен жүзеге асырылды: биологиялық материал алу (қан немесе қатырылған шәует), биологиялық материалдардан ДНҚ бөліп алу, бөліп алынған ДНҚ сапасын тексеру, ген тізбегіне талдау жасау, нүктелік мутацияның орналасуын анықтау, қажет рестриктазаны іздеп табу, праймер тізбектерін арнайы әдебиеттен алу немесе Primer 3 бағдарламасының көмегімен анықтау, амплификация жүргізу, ПТР нәтижесін горизонталдық электрофорезбен тексеру, рестрикция қою және сол арқылы ДНҚ үлгілерінің генетикалық нұсқаларын анықтау.

Ірі қара малындағы TNP2 генінің g.269 G→A позициясында орналасқан нүктелік мутация орналасуы:

```
acaccaagacacagagccttccaacacccacgcccagccccacagcaactctcgccccaaagccacgcctgccaccactgcagct
gcagccagcactgccagagccgcagccgcagccgcagctgccgcagccgcagctccagccggcgcccaggaggccaccgcagcccccactg
gcccgcagggccagagccaggcccccagccctctctgaggcgccacagacacaccatgcactcccaccagtgtccctcgcgggcccggtcaccc
actcttgagccactccaagaacagaagaactggagggaaggtgatcaagaggaagcaggtcaagagggaagcaggtgtacaa
```

Зерттеу жұмысында бұқалардың TNP2 ген локусы (g.1536 C→T SNP полиморфизмі) бойынша генотиптерін әдебиетте берілген келесі праймерлерді қолдандық: тура F 5' - ACTGGACCAATGAACGAA - 3' және кері R 5' - CTCCTACCCAACCTCTT - 3' праймерлер [13]. Аталған әдіс көмегімен алынған ПТР өнімінің ұзындығы 353 ж.н., ген аллелдерін

детерминация жасау үшін HindIII рестриктазасы қолданылды, оның сайт рестрикциясы A $\uparrow$ AGCTT. Рестрикциядан кейін ДНҚ үлгілерінде ТТ гомозиготалы генотипті сынамаларда ұзындықтары 432 ж.н., 103 ж.н., фрагменттер түзіледі, гетерозиготалы жануарларда ТС генотипті бұқаларда ұзындықтары 535 ж.н., 432 ж.н., 103 ж.н. фрагменттер, гомозиготалы СС генотипті жануарларда ұзындығы 535 ж.н. фрагмент пайда болады.

Ірі қара малында TNP2 гені g.1536 C $\rightarrow$ T SNP полиморфизмі және тура праймердің орналасуы, қызыл түспен боялған:

actggaccaatgaacgaaagaaagacagtggtgggactggatgtgtacgctggacgtgggttaagaatgaaatgaatgttgactgggtgaattcacgggtgcatgataaatggatggattcccaagtcaaaaggaccctgatgattgtgtcagttctagccatgcccatatctgattacacacgagcatccaaaaacccaaaggagagggttaagtgccttaggaagcactcagttattaaaggctccctttccatttctatcccttaggacggaagtacaactga

Бұқалардың ДНҚ үлгілерін SPEF2 ген локусы бойынша генотиптеу үшін әдебиетте көрсетілген келесі праймерлер тізбектерін қолдандық: F 5' - TAATCCTCCACCAGAATCTG - 3' және кері R 5' - GCCTTATGATGTGGGTATGA - 3', амплификация нәтижесінде ұзындығы 584 ж.н. амплификат түзіледі, үлгілердің генетикалық варианттарын анықтау үшін TaqI рестриктазасы қолданылады, гомозиготалы ТТ генотипті бұқаларда амплификат фрагментінің ішінде TaqI рестриктазасының сайт рестрикциясы болмағандықтан амплификат кесілмей 584 ж.н. құрайды, ал гетерозиготалы TG генотипті бұқаларда электрофореграммада үш фрагменттер пайда болады: 584 ж.н., 417 ж.н. 460 ж.н., 124 ж.н. 167 ж.н., ал гомозиготалы GG генотипті жануарларда ұзындықтары 417 ж.н. 460 ж.н., 124 ж.н. 167 ж.н. фрагменттер пайда болады.

Ірі қара малында SPEF2 генінің фрагменті, тура және кері праймерлердің орналасуы, TaqI эндонуклеазасының сайт рестрикциясы T/CGA.

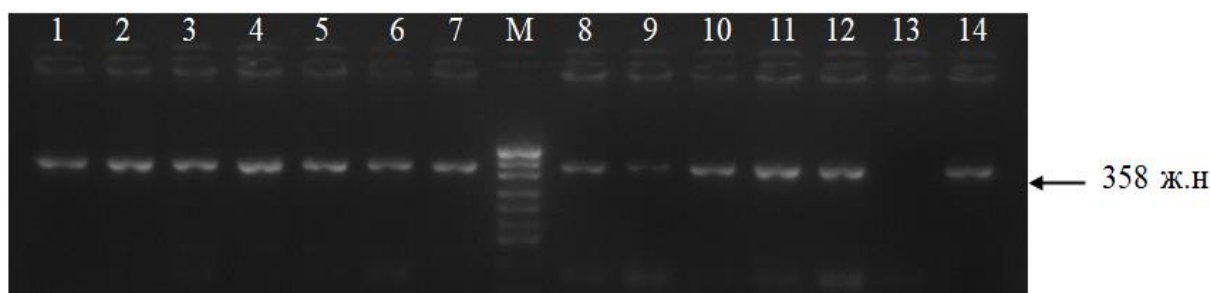
taatcctccaccagaatctgccccatccatcttgaaattcatgatttaatatgcatgttgaaaggtctcctagaggaaaaatcgctaggagggaaga ttccactcaagaaatcacctgccgagtgctacagatgttcaccgggtccagtagtgccagcccca

tcgaagcccgatcagaagagtggtgtatgaaatgaaccaattcctgaggtatggcagtttagactcaaactagtagaatttcttcttctctttat ggtaagattcacattgcacatccaaaaggccttcttggtgataatatgtattatcaaaaaagcagagatgatcatttgagaatactcattgaacc acatttcatgttttctctgcacctcaagtttctgagtcagctttgagcggctggtagtgacgaatcaggagagtaaaggtctctgtgaggaccaaa ttttctcccaaggaggagcagagatgcaatttctggaaagacagcttccccagaacacagaccagaaaattacagccctccaaccagctctca **tacccacatcataaggc**

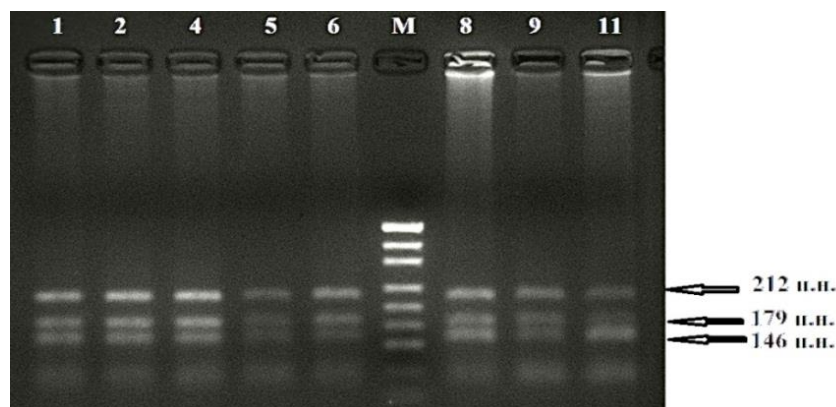
Кесте 1 – Бұқалардан алынған ДНҚ үлгілерін TNP2 ген локусы g.269 G $\rightarrow$ A, g.1536 C $\rightarrow$ T SNP полиморфизмдері, SPEF2 ген локусы бойынша генотиптеу үшін полимераздық тізбек реакциясын жүргізу шарттары

Амплификация шарттары	TNP2/HpaII (SNP g.269 G $\rightarrow$ A)	TNP2/HindIII (SNP g.1536 C $\rightarrow$ T)	SPEF2/TaqI
Бастапқы денатурация	95 $^{\circ}$ C - 5 мин	95 $^{\circ}$ C - 5 мин	95 $^{\circ}$ C - 5 мин
Денатурация	95 $^{\circ}$ C 30 с	95 $^{\circ}$ C 30 с	95 $^{\circ}$ C 20 с
Праймердің жабысуы	59 $^{\circ}$ C 30 с	54 $^{\circ}$ C 30 с	61 $^{\circ}$ C 20 с
Элонгация	72 $^{\circ}$ C 30 с	72 $^{\circ}$ C 30 с	72 $^{\circ}$ C 20 с
Циклдер саны	35	35	35
Аяқтаушы синтез	72 $^{\circ}$ C 8 мин	72 $^{\circ}$ C 10 мин	72 $^{\circ}$ C 5 мин

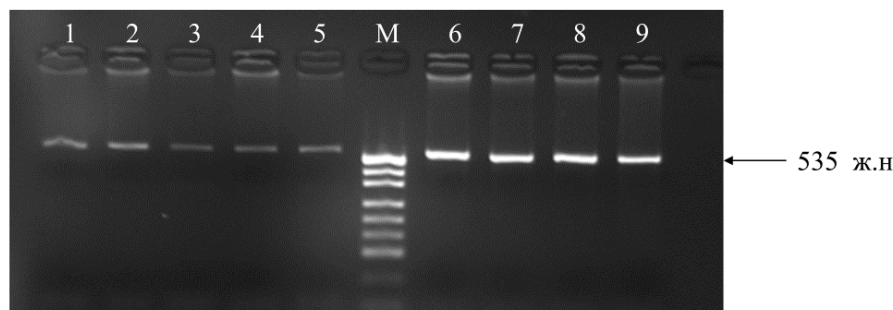
Нәтижелер және оны талдау. Сурет 1 зерттеу тобындағы бұқалардың ДНҚ үлгілерін пайдалана отырып алынған амплификат электрофореграммасы берілген, фрагмент ұзындығы 358 ж.н., амплификатты HpaII рестриктазасымен кескеннен кейін ұзындықтары 146 ж.н., 33 ж.н., 179 ж.н., 212 ж.н. фрагменттері пайда болады, соның ішінде электрофореграммада 3 ж.н. әлсіз көрінеді (сурет 2).



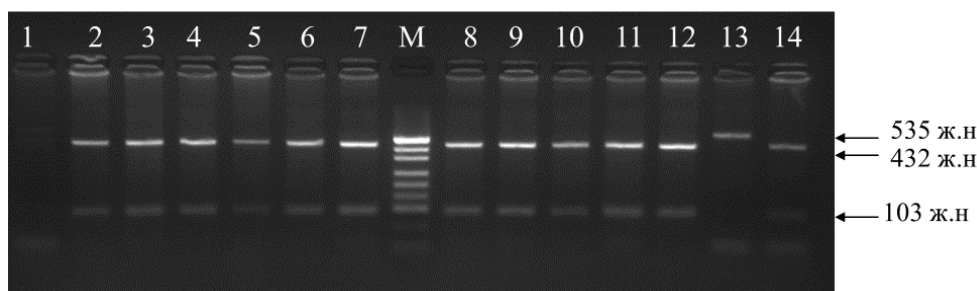
Сурет 1 – TNP2 генінің (SNP g.269 G→A) полиморфизмінің амплификат электрофореграммасы, амплификат ұзындығы 358 ж.н., 3,0% агароза, М – ДНҚ маркер рUC19/MspI



Сурет 2 – TNP2 гені (SNP g.269 G→A) полиморфизмі амплификатының HpaII рестриктазасымен кескеннен кейінгі электрофореграмма, 4,0% агароза, 1-6,8-11 ұяшықтар гетерозиготалы GA генотип, М – ДНҚ маркер рUC19/MspI

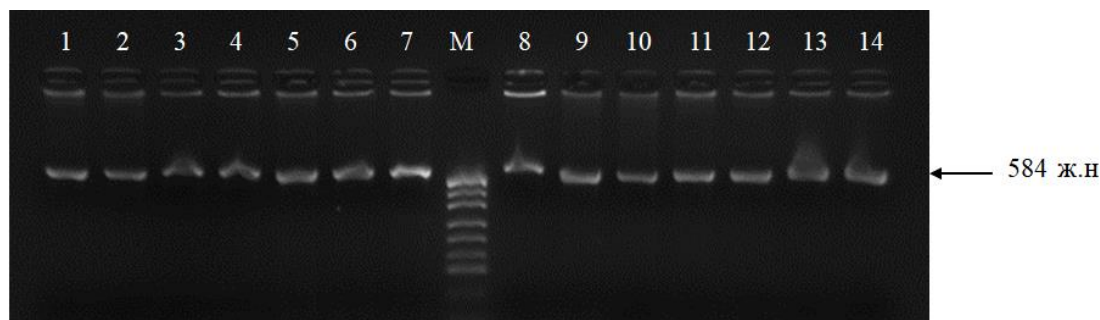


Сурет 3 – TNP2 гені локусы SNP g.1536 C→T полиморфизмі бойынша алынған амплификат электрофореграммасы, 2,5% агароза, амплификат ұзындығы 535 ж.н., М – ДНҚ маркер рUC19/MspI

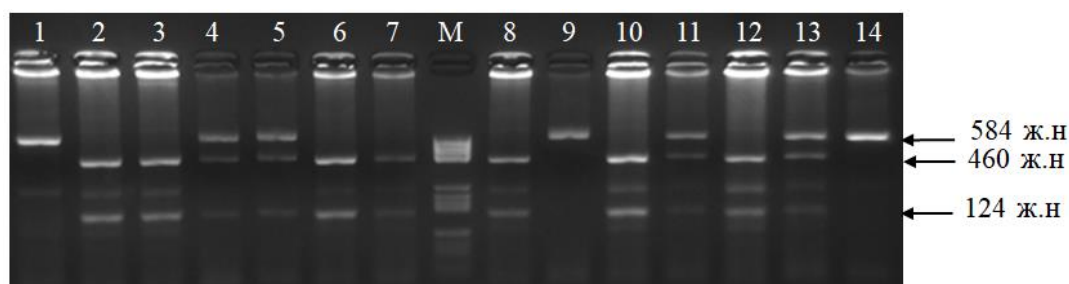


Сурет 4 – TNP2 гені SNP g.1536 C→T полиморфизмі бойынша алынған ПТР өнімін HindIII эндонуклеазасымен кескеннен кейінгі электрофореграмма, 3,0% агароза, 1-7, 8-12, 14 ұяшықтар гомозиготалы TT генотип, 13 ұяшық гомозиготалы CC генотип, М – ДНҚ маркер рUC19/MspI

Әдебиетте берілген праймерлер тізбектерін қолдану нәтижесінде сапасы жоғары TNP2 гені локусы SNP g.1536 C→T полиморфизмі бойынша амплификат алынды (сурет 3), ПТР өнімінің ұзындығы 535 ж.н. Осы полиморфизм бойынша ген аллелдерін идентификациялау үшін HindIII рестриктазасы қолданылды, бұқаларда нәтижесінде үш түрлі генетикалық нұсқалар анықталы: CC, CT, TT (сурет 4). Кесте 6 және диаграммада (сурет 5) берілген мәліметтерге сәйкес зерттеу тобындағы бұқаларда TNP2 ген локусы SNP g.1536 C→T полиморфизмі бойынша генетикалық полиморфизм анықталды, ең басым кездескен генотип гомозиготалы TT (n=42), сосын гетерозиготалы CT (n=16), сирек кездескен гомозиготалы CC генотипі (n=8).



Сурет 5 – SPEF2 ген локусы бойынша алынған амплификат электрофореграммасы, 3,0% агароза, амплификат ұзындығы 584 ж.н., М – ДНҚ маркер pUC19/MspI



Сурет 6 – SPEF2 ген локусы бойынша алынған ПТР өнімін TaqI рестриктазасымен кескеннен кейін электрофореграмма, 3,0% агароза, 1,9,14 ұяшықтар гомозиготалы CC генотип, 4-5,11,13 – ұяшықтар гетерозиготалы TC генотип, 2-3, 6-7,8, 10,12 – ұяшықтар гомозиготалы TT генотип, М – ДНҚ маркер pUC19/MspI

Зерттеу тобындағы 66 бас бұқаларда TNP2 ген локусы SNP g.269 G→A полиморфизмі бойынша жүргізілген генотиптеу нәтижесінде, осы SNP полиморфизмі бойынша бұқаларда генетикалық полиморфизм жоқ екені анықталды, атап айтқанда барлық зерттелген бұқалардың генотипі гетерозиготалы GA генетикалық нұсқасы болды, бұл осы бұқаларда гендік тепе теңдіктің бұзылуын көрсетеді, нәтижесінде осы топта χ^2 нәтижесі мүлдем жоғары болып, оның сандық мәні 66,0 құрады. Барлық жануарлар гетерозиготалы генотиппен болғандықтан, оларда G және A жиілігі 0,5 құрады.

Кесте 2 – Бұқаларда TNP2 ген локусы SNP g.269 G→A полиморфизмі бойынша генетикалық нұсқаулардың нақты және теориялық таралуы, G мен A аллелдерінің жиілігі

Зерттеу топтары	TNP2 ген локусы g.269 G→A SNP (n=66)				Аллель жиілігі	
	GG	GA	AA		G	A
	Нақты таралуы			χ^2		
Бұқалар	0	66	0		0,5	0,5
	Теориялық таралуы					
Бұқалар			16,5	66,0		
Ауытқулары						

Кесте 3 – берілген мәліметтерді талдау көрсеткеніндей, зерттеу тобындағы бұқаларда TNP2 ген локусы SNP g.1536 C→T полиморфизмі бойынша генетикалық полиморфизм бар екені анықталған, кең тараған генетикалық вариант гомозиготалы ТТ генотипі болған (n=42), сосын гетерозиготалы СТ бұқалар болған (n=16), таралуы төмен генотип СС. TNP2 ген локусы SNP g.1536 C→T полиморфизмі бойынша χ^2 нәтижесі төмен болды және 7,6296 құрады.

Кесте 3 – Бұқаларда TNP2 ген локусы SNP g.1536 C→T полиморфизмі бойынша генетикалық нұсқаулардың нақты және теориялық таралуы, С мен Т аллелдерінің жиілігі

Зерттеу топтары	TNP2 ген локусы, g.1536 C→T SNP (n=66)			χ^2	Аллель жиілігі	
	CC	CT	TT		С	Т
	Нақты таралуы					
Бұқалар	8	16	42			
	Теориялық таралуы					
Бұқалар			3	7,6296	0,25	0,75
Ауытқулары						

Кесте 4 – Зерттеу жүргізілген асыл тұқым орталықтары мен шаруашылықтарында бұқалардың тұқымы мен TNP2 g.269 G→A, g.1536 C→T SNP полиморфизм генетикалық варианттарының таралуы

Шаруашылық атауы	TNP2 ген локусы g.269 G→A, бұқалар саны/үлесі%			TNP2 ген локусы g.1536 C→T, бұқалар саны/үлесі%		
	GG	GA	AA	CC	CT	TT
Асыл Түлік (n=23)	0	23/100	0	3/13,0	7/30,5	13/56,5
Сарканд-Агро (n=17)	0	17/100	0	3/17,6	7/41,2	7/41,2
Байсерке-Агро (n=15)	0	15/100	0	2/13,3	3/20,0	10/66,7
Асыл (n=11)	0	11/100	0	0	0	11/100
Барлығы		66/100		8/12,1	17/25,7	41/62,2

Кесте 4 берілген мәліметтерді талдау нәтижесінде анықталғаны, TNP2 ген локусы g.269 G→A полиморфизмі бойынша барлық тұқымдас тексерілген бұқаларда генетикалық полиморфизм анықталмаған, ал екінші TNP2 ген локусы g.1536 C→T полиморфизмі бойынша «Асыл Түлік», «Сарканд-Агро», «Байсерке-Агро» шаруашылықтарында басым кездескен генотип, гомозиготалы ТТ генотипі және олардың таралуы, 56,5%, 41,2%, 66,7%. Алынған нәтижелердің бір айырмашылығы ДНҚ тестіленген «Асыл» компаниясының 15 бас бұқалары түгел гомозиготалы ТТ генотипімен болды. Жалпы осы зерттеу тобындағы бұқаларда, гетерозиготалы СТ генотипінің таралуы 25,7%, гомозиготалы СС генотипінің таралуы 12,1% құрады.

Кесте 5 – Бұқаларда SPEF2 ген локусы бойынша генетикалық нұсқаулардың нақты және теориялық таралуы, G мен T аллелдерінің жиілігі

Зерттеу топтары	ген локусы, (n=161)			χ^2	Аллель жиілігі	
			TT			T
	Нақты таралуы					
Бұқалар	53	29	79			
	Теориялық таралуы					
Бұқалар			5	63,92	0,42	0,58
Ауытқулары						

Атап өтетін жағдай, SPEF2 ген локусы бойынша генотипі анықталған бұқалар саны жоғары болған (n=161). Осы зерттеу тобындағы бұқаларда генетикалық полиморфизм анықталған, ең көп таралған генотип гомозиготалы ТТ генотипі болған, 79 бас, екінші орында GG генотипті бұқалар 53 бас. Аталған ген локусы бойынша геннің тепе-теңдігі бұзылғаны байқалады, χ^2 көрсеткіші 63,92 тең болды, нәтижесінде барлық генетикалық варианттар бойынша генотиптердің таралуының ауытқулары байқалады.

«Асыл Түлік» асылдандыру орталығындағы бұқалардан шәует алу аптасына екі рет таңертең, сағат 8.00 және 9.00 аралығында жүзеге асырылады, бұқалар дуплет секіру жасайды. Эякулят алынған соң органептикалық бағаланады және CASA компьютерлік бағдарламасының көмегімен эякуляттың келесі көрсеткіштері анықталды: концентрациясы, белсенді спермийлер саны, эякулятты сұйылту дәрежесі.

Кесте 6 – «Асыл Түлік» компаниясының бұқаларының SPEF2 ген локусы бойынша генотиптері және олардың репродуктивтік өнімділігі

Реттік №	Лақап аты, жеке номері	Тұқымы	SPEF2 генотипі	Орташа эякулят көлемі, мл	Белсенділігі	Концентрациясы	Мөлшер саны
1	Робелла, 8506	Голш	TG	5,57	6,8	1,08	340,9
2	Рахат, 5963	Голш	TG	5,29	7,46	1,14	489
3	Самурук, 5791	Қаз ақ	TG	5,12	4,34	0,68	137
4	Кубок, 5631	Қаз ақ	TG	5,9	6,31	0,92	322,6
5	Принц, 3733	Қаз ақ	TG	3,0	4,25	0,86	164
6	Бизон, 3682	Қаз ақ	TG	4,55	4,33	0,47	233
7	Кактус, 7224	Қаз ақ	TG	3,42	7,0	0,93	208,3
8	Сокол, Е-37	Қаз ақ	TG	6,76	6,92	0,93	568,1
	Орташа			4,95	5,92	0,87	307,8
9	Крепыш, 7280	Қаз ақ	GG	3,35	6,9	1,03	285,3
10	Кабан, 4929	Қаз ақ	GG	4,48	7,19	0,91	321,3
11	Маркус, 6428	Голш	GG	4,9	7,74	1,21	540
12	Арал, 5986	Қаз ақ	GG	1,75	6,16	0,87	31
	Орташа			3,62	6,99	1,0	294,4
13	Ворон, 627	Қаз ақ	ТТ	3,55	5,86	0,8	299,5
14	Чемпион, 441	Қаз ақ	ТТ	3,2	6,93	1,21	131,5
15	Клон, 3807	Қаз ақ	ТТ	2,56	7,12	0,89	113
	Орташа			3,10	6,63	0,96	181,3

«Асыл Түлік» АҚ қарасты бұқалардың жыныстық қызметтеріне 2018-2022 жылдар аралығында талдау жасалған, талдау нәтижелері кесте 6 берілген. Кестеде 3 бас голштейн, 12 бас қазақтың ақ бас тұқымдас бұқаларының репродуктивтік қызметтеріне талдау жасалған. Бірінші көрсеткіш бойынша, алынған эякуляттың көлемі бойынша көрсеткіштері жоғарғы бұқалар SPEF2 ген локусы бойынша гетерозиготалы TG бұқаларда болды 4,95 мл, осы көрсеткіш GG және ТТ генотипті бұқаларда болды (3,62; 3,10). Алынған эякулят көлемі және концентрациясы бойынша көрсеткіштері жоғары бұқалар GG және ТТ генотипті бұқалар болды, (6,99 және 6,63 бал, 1,0 және 0,96 млрд спермийлер 1 мл эякулятта). Бір бас бұқадан алынған эякулятты сұйылту нәтижесінде алынған мөлшерлер саны бойынша көрсеткіші жоғары бұқалар гетерозиготалы TG бұқаларда болды және 307,8 құрады.

Қорытынды. Зерттеу тобындағы бұқаларда TNP2 ген локусы SNP g.269 G→A полиморфизмі бойынша генетикалық полиморфизм анықталмады, ал осы ген локусының SNP g.1536 C→T полиморфизмі бойынша генетикалық әралуандылық дәлелденіп, гомозиготалы ТТ генотиптің жиі кездесетіні белгілі болды. Бұқаларда TNP2 ген локусы SNP g.269 G→A полиморфизмі бойынша генетикалық полиморфизм болмағандықтан, осы ген аллелдерінің бұқалардың репродуктивтік қызметіне әсерін анықтау мүмкін болмады. Келесі SPEF2 ген локусы

бойынша генотиптері анықталған 15 бас бұқаларда осы ген аллелдерінің бұқалардың репродуктивтік қызметіне ассоциативтік әсері анықталды. Өндірісте бұқалардың жыныстық қызметіне аса маңызды көрсеткіштер, алынған эякулят көлемі (4,95 мл) мен қатырылған шәуеттер саны (307,8 доза) көрсеткіші SPEF2 ген локусы бойынша гетерозиготалы TG бұқаларда болды. Бұқалардан алынған эякуляттағы спермилердің белсенділігі және спермийлер концентрациясы бойынша SPEF2 локусы бойынша GG және TT генотипті бұқалары болды (белсенділігі 6,99 және 6,63, концентрациясы 1,0 және 0,96). Зерттеу нәтижелері сонымен қатар осы топтағы бұқаларда TNP2 ген g.269 G→A SNP полиморфизмі және SPEF2 ген локустары бойынша гендік тепе теңдіктің үлкен дәрежеде бұзылғанын көрсетеді және χ^2 сандық көрсеткішінің 66,0 мен 63,92 құрады.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Qing, Gao., Zhihua Ju, Yan Zhang., Jinming Huang, Xiaojian Zhang, Chao Qi, Jianbin Li, Jifeng Zhong, Guorong Li, Changfa Wang. [Text] / Qing Gao., Zhihua Ju, Yan Zhang., Jinming Huang, Xiaojian Zhang, Chao Qi, Jianbin Li, Jifeng Zhong, Guorong Li, Changfa Wang// Association of TNP2 Gene Polymorphisms of the bta-miR-154 Target Site with the Semen Quality Traits of Chinese Holstein Bulls. PLOS ONE | www.plosone.org 1 January 2014 | Volume 9 | Issue 1 | e84355
- 2 Yathish Hirenallur Maheshwarappa, Subodh Kumar, Rajni Chaudhary, Chinmoy Mishra, Sivakumar Ayyar, Amit Kumar, Anuj Chauhan, Subrata Kumar Ghosh, Manjit Panigrahi, Abhijit Mitra. Identification of sperm motility markers in bovine transition protein genes. [Text] / Yathish Hirenallur Maheshwarappa, Subodh Kumar, Rajni Chaudhary, Chinmoy Mishra, Sivakumar Ayyar, Amit Kumar, Anuj Chauhan, Subrata Kumar Ghosh, Manjit Panigrahi, Abhijit Mitra. // <https://doi.org/10.1111/rda.13369>Citations : 8 Volume54, Issue2 February 2019 Pages 365-372
- 3 Nikitkina, E. Associations of FSHR, INHA, INHAB, PRL, TNP2 and SPEF2 Genes Polymorphisms with Semen Quality in Russian Holstein Bulls (Pilot Study). [Text] / E. Nikitkina //Animals 2021, 11, 2882. <https://doi.org/10.3390/ani11102882> <https://www.mdpi.com/journal/animals>
- 4 Ashish, R. PCR-RFLP Analysis of TNP2 Gene in Indigenous Cattle Breeds. [Text] / R. Ashish, K.N. Raja, Ranjana Sinha and I. Ganguly. // Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci (2018) 7(8): 775-782
- 5 Meistrich, ML (1989) Histone and basic nuclear protein transitions in mammalian spermatogenesis. [Text] / Meistrich ML// In: Hnilica LS, Stein GS, Stein JL, editors. Histones and other basic nuclear proteins. CRC Press, Orlando, Fla. pp. 165–182.
- 6 Panigrahi, S. and Yadav B., Polymorphism in TNP-1 gene of Murrah buffalo bulls, [Text] / Panigrahi S. and B. Yadav // African Journal of Biotechnology. (2010) 9, no. 43, 7224–7229.
- 7 Kleene, KC (1989) PolyA shortening accompanies the activation of translation of five mRNAs during spermiogenesis in the mouse. [Text] / Kleene KC // Development 106: 367–373.
- 8 Meistrich, ML (1993) Nuclear morphogenesis during spermiogenesis. In: Kretser D, editor. Molecular biology of the male reproductive system. Academic Press, San Diego, Calif. pp. 67–97.
- 9 Шорманова, М.М. Оптимизация условий проведения амплификации гена transition protein 2 (TNP2) у племенных быков. [Текст] / М.М. Шорманова // 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 256-257
- 10 Khattri, A. [Text] / A. Khattri //The TNP1 haplotype - GCG is associated with azoospermia, International Journal of Andrology. (2011) 34, no. 2, 173–182, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2010.01072.x>, 2-s2.0-79952731773
- 11 Ranjan, A. Sequence characterization and SNP identification of TNP1 gene in Indian cattle breeds, [Text] / A. Ranjan //Indian Journal of Animal Research. (2018) 52, no. 12, 1680–1683.
- 12 Qing Gao, Zhihua Ju, Yan Zhang, Jinming Huang, Xiaojian Zhang, Chao Qi, Jianbin Li, Jifeng Zhong, Guorong Li, Changfa Wang. Association of TNP2 Gene Polymorphisms of the bta-miR-154 Target Site with the Semen Quality Traits of Chinese Holstein Bulls. PLOS ONE | www.plosone.org January 2014 | Volume 9 | Issue 1 | e84355].
- 13 Усенбеков, Е.С. Способ генотипирования крупного рогатого скота по локусу гена TNP2 методом ПЦР-ПДРФ анализа. [Текст] / Е.С. Усенбеков, // Патент на изобретение РК № 36470

- 14 Kramer, JA. (1998) Genesis of a novel human sequence from the protamine PRM1 gene. [Text] / JA. Kramer // *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 120: 467–73.
- 15 Tseden K, Topaloglu O, Meinhardt A, Dev A, Adham I, et al. (2007) Premature translation of transition protein 2 mRNA causes sperm abnormalities and male infertility. *Mol Reprod Dev* 74: 273–279.
- 16 Wykes SM, Nelson JE, Visscher DW, Djakiew D, Krawetz SA (1995) Coordinate expression of the PRM1, PRM2, and TNP2 multigene locus in human testis. [Text] / *DNA Cell Biol* 14: 155–61
- 17 Sironen, A.; Hansen, J.; Thomsen, B.; Andersson, M.; Vilkkilä, J.; Toppari, J.; Kotaja, N. Expression of SPEF2 during Mouse Spermatogenesis and Identification of IFT20 as an Interacting Protein. [Text] / *Biol. Reprod.* 2010, 82, 580–590.
- 18 Shormanova, M. Development of alternative diagnosis of HH1, HH3, HH5 and HCD fertility haplotypes and subfertility syndrome in cattle. [Text] / M. Shormanova // *Reproduction in Domestic Animals*, 2024, 59(1), e14533
- 19 Тургумбеков, А.А. Исследование GDF9 A625T/DraI SNP олиморфизма и ассоциативное влияние его аллелей на репродуктивную функцию коров. [Текст] / А.А. Тургумбеков // Ғылым және білім Наука и образование Science and education 2-бөлім No2-2 (71) 2023 стр 121-129
- 20 Тургумбеков, А.А. Исследование Era/BglI SNP полиморфизма у крупного рогатого скота, ассоциированного с репродуктивной функцией. [Текст] / А.А. Тургумбеков // «3i: intellect, idea, innovation - интеллект, идея, инновация» 2023 ж. маусым, № 2 № 2 июнь 2023 г. стр 147-154
- 21 Muslimova, Zh. Genotyping of Holstein Cows by SELL, MX1 and CXCR1 Gene Loci Associated With Mastitis Resistance. [Text] / *Reproduction in Domestic Animals*, 2024; 59:e14713 <https://doi.org/10.1111/rda.14713>

REFERENCES

- 1 Qing, Gao., Zhihua Ju, Yan Zhang., Jinming Huang, Xiaojian Zhang, Chao Qi, Jianbin Li, Jifeng Zhong, Guorong Li, Changfa Wang. [Text] / Qing Gao., Zhihua Ju, Yan Zhang., Jinming Huang, Xiaojian Zhang, Chao Qi, Jianbin Li, Jifeng Zhong, Guorong Li, Changfa Wang// Association of TNP2 Gene Polymorphisms of the btamiR-154 Target Site with the Semen Quality Traits of Chinese Holstein Bulls. *PLOS ONE* | www.plosone.org 1 January 2014 | Volume 9 | Issue 1 | e84355
- 2 Yathish Hirenallur Maheshwarappa, Subodh Kumar, Rajni Chaudhary, Chinmoy Mishra, Sivakumar Ayyar, Amit Kumar, Anuj Chauhan, Subrata Kumar Ghosh, Manjit Panigrahi, Abhijit Mitra. Identification of sperm motility markers in bovine transition protein genes. [Text] / Yathish Hirenallur Maheshwarappa, Subodh Kumar, Rajni Chaudhary, Chinmoy Mishra, Sivakumar Ayyar, Amit Kumar, Anuj Chauhan, Subrata Kumar Ghosh, Manjit Panigrahi, Abhijit Mitra. // <https://doi.org/10.1111/rda.13369>Citations : 8 Volume54, Issue2 February 2019 Pages 365-372
- 3 Nikitkina, E. Associations of FSHR, INHA, INHAB, PRL, TNP2 and SPEF2 Genes Polymorphisms with Semen Quality in Russian Holstein Bulls (Pilot Study). [Text] / E. Nikitkina // *Animals* 2021, 11, 2882. <https://doi.org/10.3390/ani11102882> <https://www.mdpi.com/journal/animals>
- 4 Ashish, R. PCR-RFLP Analysis of TNP2 Gene in Indigenous Cattle Breeds. [Text] / R. Ashish, K.N. Raja, Ranjana Sinha and I. Ganguly. // *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* (2018) 7(8): 775-782
- 5 Meistrich, ML (1989) Histone and basic nuclear protein transitions in mammalian spermatogenesis. [Text] / Meistrich ML// In: Hnilica LS, Stein GS, Stein JL, editors. *Histones and other basic nuclear proteins*. CRC Press, Orlando, Fla. pp. 165–182.
- 6 Panigrahi, S. and Yadav B., Polymorphism in TNP-1 gene of Murrah buffalo bulls, [Text] / Panigrahi S. and B. Yadav // *African Journal of Biotechnology*. (2010) 9, no. 43, 7224–7229.
- 7 Kleene, KC (1989) PolyA shortening accompanies the activation of translation of five mRNAs during spermiogenesis in the mouse. [Text] / Kleene KC // *Development* 106: 367–373.
- 8 Meistrich ,ML (1993) Nuclear morphogenesis during spermiogenesis. In: Kretser D, editor. *Molecular biology of the male reproductive system*. Academic Press, San Diego, Calif. pp. 67–97.
- 9 SHormanova, M.M.Optimizaciya uslovij provedeniya amplifikacii gena transition protein 2 (TNP2) u plemennyh bykov. [Tekst] / M.M. SHormanova / / *Materialy mezhdunarodnoj nauchnoj*

konferencii studentov, aspirantov i molodyh uchenykh «Znaniya molodyh dlya razvitiya veterinarnoj mediciny i APK strany» 22-23 noyabrya 2018 g, Sankt-Peterburg, str 256-257

10 Khattri, A. [Text] / A. Khattri //The TNP1 haplotype - GCG is associated with azoospermia, International Journal of Andrology. (2011) 34, no. 2, 173–182, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2010.01072.x>, 2-s2.0-79952731773

11 Ranjan, A. Sequence characterization and SNP identification of TNP1 gene in Indian cattle breeds, [Text] / A. Ranjan //Indian Journal of Animal Research. (2018) 52, no. 12, 1680–1683.

12 Qing Gao, Zhihua Ju, Yan Zhang, Jinming Huang, Xiaojian Zhang, Chao Qi, Jianbin Li, Jifeng Zhong, Guorong Li, Changfa Wang. Association of TNP2 Gene Polymorphisms of the bta-miR- 154 Target Site with the Semen Quality Traits of Chinese Holstein Bulls. PLOS ONE | www.plosone.org January 2014 | Volume 9 | Issue 1 | e84355].

13 Usenbekov, E.S. Sposob genotipirovaniya krupnogo rogatogo skota po lokusu gena TNP2 metodom PCR-PDRF analiza. [Tekst] / E.S. Usenbekov, // Patent na izobretenie RK № 36470

14 Kramer, JA. (1998) Genesis of a novel human sequence from the protamine PRM1 gene. [Text] / JA. Kramer // Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol 120: 467–73.

15 Tseden K, Topaloglu O, Meinhardt A, Dev A, Adham I, et al. (2007) Premature translation of transition protein 2 mRNA causes sperm abnormalities and male infertility. Mol Reprod Dev 74: 273–279.

16 Wykes SM, Nelson JE, Visscher DW, Djakiew D, Krawetz SA (1995) Coordinate expression of the PRM1, PRM2, and TNP2 multigene locus in human testis. [Text] / DNA Cell Biol 14: 155–61

17 Sironen, A.; Hansen, J.; Thomsen, B.; Andersson, M.; Vilkkki, J.; Toppari, J.; Kotaja, N. Expression of SPEF2 during Mouse Spermatogenesis and Identification of IFT20 as an Interacting Protein. [Text] / Biol. Reprod. 2010, 82, 580–590.

18 Shormanova, M. Development of alternative diagnosis of HH1, HH3, HH5 and HCD fertility haplotypes and subfertility syndrome in cattle. [Text] / M. Shormanova // Reproduction in Domestic Animals, 2024, 59(1), e14533

19 Turgumbekov, A.A. Issledovanie GDF9 A625T/DraI SNP olimorfizma i asociativnoe vliyanie ego allelej na reproduktivnyuyu funkciyu korov. [Tekst] / A.A. Turgumbekov // Gylym zhane bilim Nauka i obrazovanie Science and education 2-bolim No2-2 (71) 2023 str 121-129

20 Turgumbekov, A.A. Issledovanie Era/Bgli SNP polimorfizma u krupnogo rogatogo skota, associrovannogo s reproduktivnoj funkciej. [Tekst] / A.A. Turgumbekov // «3i: intellect, idea, innovation - intellekt, ideya, innovaciya» 2023 zh. mausym, № 2 № 2 iyun' 2023 g. str 147-154

21 Muslimova, Zh. Genotyping of Holstein Cows by SELL, MX1 and CXCR1 Gene Loci Associated With Mastitis Resistance. [Text] / Reproduction in Domestic Animals, 2024; 59:e14713 <https://doi.org/10.1111/rda.14713>

РЕЗЮМЕ

Авторами статьи проведена работа по генотипированию быков производителей по локусам генов TNP2, SPEF2 методами полимеразной цепной реакции в сочетании с полиморфизмом длин рестрикционных фрагментов. Были генотипированы 66 образцов ДНК по локусу гена TNP2 (g.269 G→A, g.1536 C→T SNP полиморфизмы), 161 образца ДНК по локусу гена SPEF2. Результатами исследования установлено отсутствие генетического полиморфизма по локусу гена TNP2 (g.269 G→A) у исследуемых быков производителей, выявлен генетический полиморфизм гена TNP2 (g.1536 C→T SNP) и были определены генетические варианты CC, CT, TT по данному локусу TNP2 g.1536 C→T SNP. Проведен анализ репродуктивной функции быков производителей АО «Асыл Тулик» за период с 2018 по 2022 годы и были определены быки производители с высокими показателями воспроизводительной функции. Были оценены следующие параметры репродуктивной функции быков: объем полученного эякулята, активность спермиев, концентрация спермы, количество полученных сперматоз. Средний большой объем эякулята был у быков производителей с гетеозиготным генотипом TG (локус гена SPEF2) и составил 4,95 мл, количество полученных сперматоз было 307,8 на одного быка производителя. Однако, быки производители с указанным генотипом имели более низкие показатели по активности спермиев, концентрации спермиев в эякуляте. По данному показателю быки производители с гомозиготными генотипами GG, TT имели более высокие цифровые значения, (активность спермиев 6,99 и 6,63, соответственно), концентрация спермы (1,0 и 0,96 млрд/мл). Таким образом, SNP полиморфизм локализованный в кодирующей части гена SPEF2 можно рассматривать в качестве ДНК маркеры репродуктивной функции у быков производителей.