

Вебинар тақырыбы: Түйе шаруашылығында бірегейлендіру және паспорттаудың жаңа тәсілдері



Мақсаты: Түйелердің генетикалық қорын бірегейлендірудің, жүйелеудің және паспорттаудың жаңа тәсілдерінің тиімділігін айқындау.

Міндеттері:

- ауылшаруашылық малдарын генотиптеудің технологияларымен танысу;
- түйе шаруашылығының генетикалық қорын бірегейлендірудің, жүйелеудің және паспорттаудың бағыттарын анықтау;
- Түйелердің генетикалық қорын анықтаудың, жүйелеудің және паспорттаудың өндіріске енгізудің жолдары.

Фермерлер үшін практикалық құндылығы

Түйе шаруашылығымен айналысатын фермерлер үшін түйелердің генетикалық қорын бірегейлендірудің, жүйелеудің және паспорттаудың жаңа тәсілдері селекциялық жұмыстарда тиімді қолдану шаралары жеткізіліп, анықталып, жоғарғы өнімді асыл тұқымды малдарды іріктеуде және жұптауда қолданылып, сапалы мал өнімін өндіруді жоғарылатып, тиісті бағытта өсіруге мүмкіндік береді.

ҚАЗІРГІ ЖАҒДАЙЫ

ТЕЗИС	ЕГЖЕЙЛЕРІ
<p>Түйе шаруашылығындағы генетикалық қорларды бірегейлендіру, жүйелеу және паспорттау – популяцияларды асылдандырудың негізгі шешуші факторы.</p>	<p>«Оңтүстік-Батыс мал және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС ғылыми қызметкерлері әртүрлі аймақтардағы түйелердің сүт өнімділігі жоғары 450 бас генотипі асылтұқымды мал тобына іріктеу үшін күндік сүттілігі 6 кг кем емес, майлылығы 3,9% кем емес ДНК-технологиясын қолдану арқылы бірегейлендірілді, паспортталды. «Түйе шаруашылығында селекциялық процесін тиімді басқару технологияларын әзірлеу, генетикалық ресурстарын сақтау және жетілдіру технологиясын дайындау» бағдарламасы бойынша популяциялық талдау үшін SNP маркерлеріне таңдау жүргізіліп, 120 SNP маркер таңдалды. Геномдық ДНК түйелердің 1046 қан үлгісінен бөлініп алынып, олар генотиптеліп, бірегейлендірілуде, жүйеленуде және паспортталуда.</p>
<p>Мал өнімдерін бірегейлендіру, жүйелеу және стандарттау – оның сапасының негізгі көзі.</p>	<p>Негізінен мал өнімдерін ет-сүт ДНК-технологиясы арқылы бірегейлендіру, жүйелеу және стандарттау өте төменгі сатыда қолданылуда. Әсіресе өңделген ет-сүт өнімдерін жаңа тиімді технологиялармен олардың тұқымдық түрлеріне баға беру өте маңызды мәселе.</p>

Малдарды генотиптеу технологиялары

Малдарды генотиптеу технологиясы дәл және сенімді әдіс ретінде өзін танытты және генетикалық зерттеулер жақсарған сайын танымал болуды жалғастыруда. Мал тұқымдарын анықтау үшін әртүрлі молекулалық маркерлер қолданылады.

Малдарды генотиптеу технологиялары: қан топтары мен ақуыз полиморфизмі, AFLP - амплификацияланған ДНҚ фрагментінің ұзындығының полиморфизмі, RAPD - кездейсоқ амплификацияланған полиморфты ДНҚ, RFLP - рестрикцияланған фрагментінің ұзындығының полиморфизмі, SSRs микросателиттер болып табылады. Даму заманауи жоғары өнімді генотиптеу технологиялары бір нуклеотид сияқты миллиондаған ДНҚ маркерлерін бір уақытта анықтауға мүмкіндік беретін микромассивтерді жасауға әкелді.

AFLP-ПТР – ДНҚ полиморфизмдерін анықтаудың жоғары сезімтал әдісі. Бұл әдісті алғаш рет 1993 жылы Вос пен Забо сипаттаған. Бұл әдіс процедурасы үш кезеңге бөлінеді: 1. жалпы жасушалық ДНҚ-ның бір немесе бірнеше шектеу ферменттерімен ыдырауы және барлық шектеу фрагменттері үшін жартылай сайт адаптерлерімен рестрикцияны байлау. 2. Осы фрагменттердің кейбірін сәйкес адаптер мен шектеу орны реттілігі бар екі ПТР праймерлерімен таңдамалы күшейту. 3. Гель матрицасында ампликондардан электрофоретикалық бөлу, содан кейін жолақ құрылымын визуализациялау.

Кездейсоқ амплификацияланған полиморфты ДНҚ, (RAPD) - қысқа олигодезоксирибонуклеотидті ерікті (кездейсоқ) праймерлерді қолдану арқылы полимеразды тізбекті реакция арқылы ДНҚ күшейтуге негізделген әдіс. Осы әдіспен анықталған ұзындығы полиморфты фрагменттер генетикалық карталарды құру үшін генетикалық маркерлер ретінде пайдаланылуы мүмкін және микроорганизмдердің штаммдары, әртүрлі өсімдіктер сорттары және жануарлар тұқымдары арасындағы полиморфизмді анықтауға мүмкіндік береді.

Рестрикцияланған фрагментінің ұзындығының полиморфизмі (RFLP) – рестрикциялық эндонуклеазалармен ДНҚ-ны кесу және гелдік электрофорез (ДНҚ электрофорезі) арқылы алынған фрагменттердің (рестрикциялардың) өлшемін әрі қарай талдау арқылы геномдық ДНҚ-ны зерттеу әдісі.

Микросателлиттік қайталану полиморфизмінің жоғары деңгейі олардың негізінде ақпараттық молекулалық маркерлерді құруға мүмкіндік береді. Олар SSR маркерлері деп аталады, ал талдау әдісі сәйкесінше SSR әдісі болып табылады. Ол адамның жеке басын анықтау үшін ұзақ және сәтті қолданыла бастады. Қазіргі уақытта SSR талдауы шаруашылық маңызы бар мал түрлерін анықтау үшін қолданылады. SSR маркерлерінің көмегімен генотипті анықтау әдісі талданатын үлгілердің геномындағы қайталанатын тізбектердің ұзындығын анықтауға негізделген. Қайталанатын тізбегі оның қапталдағы праймерлерімен ПТР арқылы анықталады. SSR маркерлерін құру үшін бірнеше тәсілдер қолданылады. Стандартты әдіс қарапайым қайталаулармен байытылған геномдық кітапхананы құруды қамтиды, содан кейін қажетті реттіліктер скринингтен өтеді. Олар реттелген және қарапайым қайталауларды қапталдайтын тізбектердің бастапқы құрылымы туралы деректер негізінде сәйкес праймерлер әзірленген. Қарапайым қайталауларды қамтитын локустарды оқшаулау әдістері жетілдірілді және өзгертілді. SSR әдісінің ерекшелігі - малдар түрі үшін өзіндік SSR маркерлерін жасау қажет. Әртүрлі организмдер геномының нуклеотидті тізбектерінің құрылымы туралы ақпараттың жинақталуымен SSR маркерлері халықаралық мәліметтер қорын, мысалы, экспрессивті реттілік тегтерінің деректер қорын пайдалана отырып әзірленеді.

Бір нуклеотидтік полиморфизм (SNP; English Single Nucleotide Polymorphism, SNP) - бір нуклеотидтің (A, T, G немесе C) геномындағы (немесе басқа салыстырылған тізбегіндегі) бір нуклеотидтің ДНҚ тізбегінің бір өкілдерінің геномындағы айырмашылықтары. түрлер немесе гомологиялық аймақтар арасындағы гомологиялық хромосомалар. Молекулярлық-генетикалық маркерлер (маркерлер) ретінде, мысалы, гомологиялық ДНҚ аймақтарының дивергенциясы негізінде молекулалық-генетикалық систематиканың кладограммаларын құру үшін бір нуклеотидтік полиморфизм (фрагментті шектеу полиморфизмімен (RFLP және AFLP) кеңінен қолданылады. филогенезде. Бұл аймақта рибосомалық РНҚ генінің аралықтары жиі қолданылады. Бұл аралықтағы мутациялар геннің соңғы өнімдерінің құрылымына әсер етпейтіндіктен (теориялық тұрғыдан олар өміршеңдігіне әсер етпейді), бірінші жуықтауда полиморфизм дәрежесі мен организмдер арасындағы филогенетикалық қашықтық арасында тікелей байланыс бар деп тұжырымдалады.

ДНҚ микрочиптерінің жұмысы гибридтену құбылысына негізделген. Зерттелетін үлгідегі ДНҚ аз мөлшерде болған жағдайда амплификацияланады. ДНҚ/РНҚ үлгілерін тексеру кейіннен анықтау үшін үлгілерді әртүрлі флуоресцентті белгілермен таңбалаудан және үлгілерді микрочипке қолданудан тұрады. Оған қолданылған үлгісі бар ДНҚ микрочипі комплементарлы бір тізбекті молекулалардың гибридизациясы орын алуы үшін біраз уақыт инкубацияланады, содан кейін чип жуылады. Барлық комплементарлы емес ДНҚ/РНҚ үлгілері чиптен жуылады. Осыдан кейін микрочип лазердің көмегімен сканерленеді, бұл үлгінің таңбаланған молекулаларының флуоресценциясын тудырады. Компьютерге қосылған микроскоп ДНҚ микрочипінің әрбір учаскесінің флуоресценциясын бағалайды және сәйкесінше гибридтелген ДНҚ ретін белгілейді, бұл үлгіден ДНҚ, РНҚ тізбегін анықтауға мүмкіндік береді.

Полимеразды тізбекті реакция

Әдіс ДНҚ нуклеин қышқылының белгілі бір бөлігін ферменттердің көмегімен жасанды жағдайларда (in vitro) бірнеше рет таңдап көшіруге негізделген. Бұл жағдайда тек көрсетілген шарттарды қанағаттандыратын аймақ көшіріледі және ол зерттелетін үлгіде болған жағдайда ғана. Тірі ағзалардағы ДНҚ күшейтуінен (репликация) айырмашылығы, ДНҚ-ның салыстырмалы түрде қысқа бөліктері ПТР көмегімен күшейтіледі. Кәдімгі ПТР процесінде репликацияланған ДНҚ аймақтарының ұзындығы 3000 негізгі жұптан аспайды. Өртүрлі полимераздар қоспасының көмегімен, қоспаларды қолданғанда және белгілі бір жағдайларда ПТР фрагментінің ұзындығы 20-40 мың негіз жұбына жетуі мүмкін. Бұл әлі де эукариоттық жасушаның хромосомалық ДНҚ ұзындығынан әлдеқайда аз.

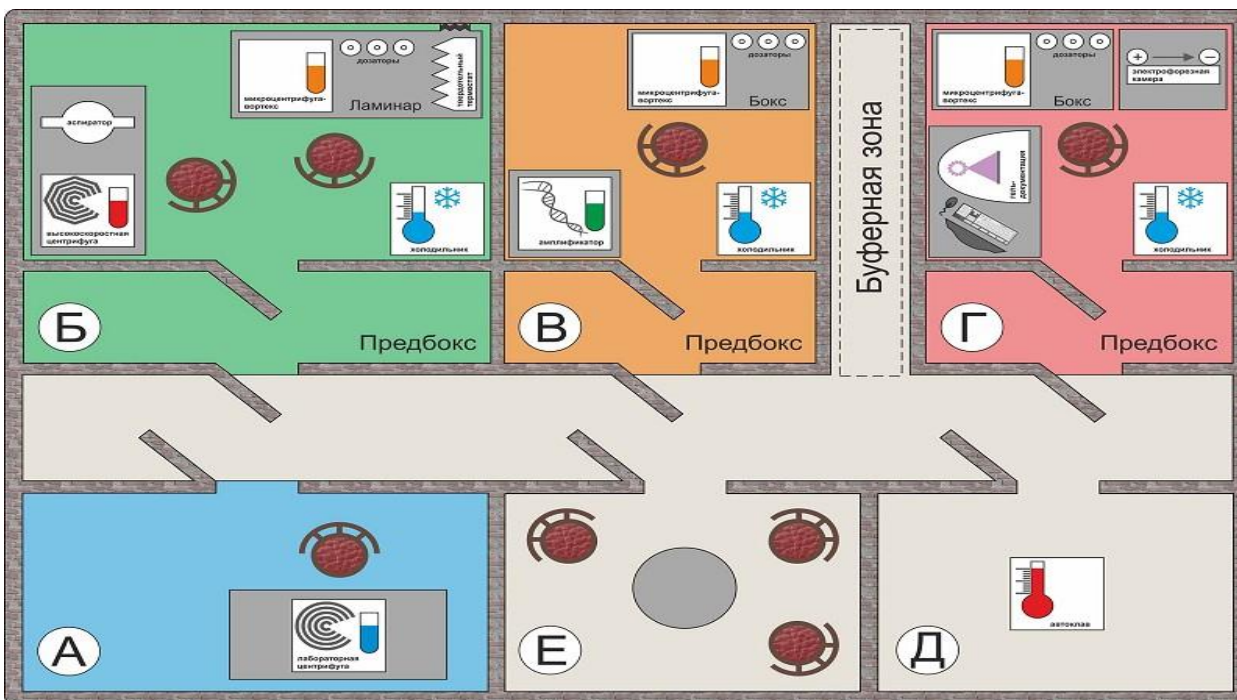
Реакцияның компоненттері

Ең қарапайым жағдайда ПТР үшін келесі компоненттер қажет:

1. Күшейтілетін ДНҚ бөлімін қамтитын ДНҚ үлгісі.
2. Қажетті ДНҚ фрагментінің әртүрлі жіптерінің қарама-қарсы ұштарын толықтыратын екі праймер.
3. Термотұрақты ДНҚ-полимераза – ДНҚ-ның полимерленуін катализдейтін фермент. ПТР-да қолдануға арналған полимераза жоғары температурада ұзақ уақыт белсенді болуы керек, сондықтан термофилдерден оқшауланған ферменттер қолданылады - *Thermus aquaticus* (Taq полимераза), *Pyrococcus furiosus* [en] (Pfu полимераза), *Pyrococcus woesei* (Pwo полимераза), *Thermus thermophilus* (Tth-полимераза) және т.б.
4. Дезоксирибнуклеозидтрифосфаттар (dATP, dGTP, dCTP, dTTP).
5. Полимеразаның жұмыс істеуі үшін қажетті Mg²⁺ иондары.
6. Қажетті реакция жағдайларын қамтамасыз ететін буферлік ерітінді – рН, ерітіндінің иондық күші. Құрамында тұздар, сиыр сарысуы альбумині бар. Пирофосфатазаны қосу ПТР өнімділігін арттыруы мүмкін. Бұл фермент өсіп келе жатқан ДНҚ тізбегіне нуклеозидтрифосфаттардың ортофосфатқа қосылуының қосалқы өнімі пирофосфаттың гидролизін катализдейді. Пирофосфат ПТР-ны тежей алады. ПТР ерекшелігі шаблон мен праймерлер, ұзындығы 18-30 негіздік қысқа синтетикалық олигонуклеотидтер арасында комплементарлы кешендердің түзілуіне негізделген. Праймерлердің әрқайсысы қос тізбекті үлгінің тізбектерінің біріне қосымша болып табылады және күшейтілген аймақтың басы мен соңын шектейді.

Зертханада ПТР талдауын жүргізу үш кезеңде жүреді: ДНҚ бөліп алу; ДНҚ фрагменттерін амплификациялау; амплификацияланған ДНҚ өнімдерін детекциялау.









ДНК – технология зертханасы




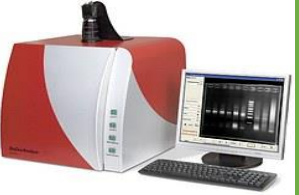


- А. Материалды қабылдау, тіркеу және бастапқы өңдеу аймағы
- Б. ДНҚ оқшаулау аймағы
- В. Реакция қоспасын дайындау аймағы және ПТР
- Г. ПТР нәтижелерін анықтау аймағы
- Д. Биотехнологиялық зерттеу кабинеті
- Е. Сынып бөлмесі

ДНК-технологиялар зертханасын жабдықтау үшін ұсынылған үлгілері бар жабдықтар

А. Материалдарды қабылдау, тіркеу және бастапқы өңдеу аймағы		
Жабдық	Атауы және сипаттамалары	Мақсаты
	Hettich Universal 320R центрифугалық зертханасы - жылдамдығы 15 000 айн/мин - температура диапазоны -20°C...+ 40°C	Салқындату мүмкіндігімен үлгі компоненттерін тұндыру және бөлу
Б. ДНҚ экстракция аймағы		
	Бактериялық ауа қорабы BAVp-01-«Ламинар-с»-1.5 - өнімділігі 1560 м3/сағ - жұмыс камерасының өлшемдері 140x61x68 см	Ауа тамшылары арқылы берілетін патогендік агенттермен және микроорганизмдермен жұмыс істегенде операторды қорғау.
	Тұтынылатын реагент жинағы бар KINGFISHER FLEX магниттік бөлшектер процессоры - өңдеу көлемі 96 үлгі: 20-1000 мкл, 24 үлгі: 200-5000 мкл - жылыту блогы +115°C дейін	Нуклеин қышқылдарын автоматты режимде алу
	Multivortex BioSan V-32 Ауқым - жылдамдықтары 500-3000 айн/мин 32 үлгіге арналған платформа	Бір уақытта 32 үлгіге дейін қарқынды араластыру
	BioSan FTA-1 ұстағышы бар аспиратор -вакуум -500 мбар - ыдыстың көлемі 1 л	НК оқшаулау және тазарту кезінде пробиркалардың қабырғаларынан спирт/буфердің іздік мөлшерін алу
	Бактерицидтік рециркулятор BioSan UVR-M - УК шамы 25 Вт - өнімділігі 14 м3/сағ	Бөлмедегі ауаны ультракүлгін сәулелермен дезинфекциялау

	<p>Sanyo MDF-U3286S тік мұздатқыш - камераның көлемі 333л - диапазоны -50°C...-86 °C</p>	<p>ПТР компоненттерінің сынамалары мен қор ерітінділерінің коллекциясын ұзақ сақтау</p>
	<p>Түтік сөрелері 0,2, 0,5 және 1,5 мл</p>	<p>Оператор жұмысының барлық кезеңдерінде үлгілер мен ПТР компоненттері бар пробиркаларды орналастыру</p>
	<p>Hamilton SoftGrip айнымалы көлемді тамшуыр жинағы</p>	<p>Сұйықтық көлемін автоматты мөлшерлеу</p>
В. Реакция қоспасын дайындау аймағы және ПТР		
	<ul style="list-style-type: none"> • Стерильді жұмыстарға арналған бокс BioSan UVT-S-AR • екі ультракүлгін шам 30 Вт • жұмыс бетінің өлшемі 1200x520 мм 	<p>ДНҚ үлгілерімен таза жұмыс, НА оқшаулау кезінде ластанудан қорғауды қамтамасыз ету және ПТР үшін реакциялық қоспаны дайындау</p>
	<p>Thermocycler Biometra TProfessional 96 - термоблок форматы 96x0,2 мл - қыздыру/салқындату жылдамдығы = 5,0/3,5°C/сек</p>	<p>Полимеразды тізбекті реакцияны жүргізу</p>
	<p>Шағын құйынды центрифуга BioSan "Combi-spin" FVL-2400N - жылдамдығы 2800 айн/мин - ротор 12x0,5 мл + 12x0,2 мл</p>	<p>Үлгілерді араластыру және бөлу</p>
	<p>Multivortex BioSan V-32 - жылдамдық диапазоны 500-3000 айн/мин - 32 үлгіге арналған платформа</p>	<p>Бір уақытта 32 үлгіге дейін қарқынды араластыру</p>
	<p>Мұздатқышы бар тоңазытқыш</p>	<p>Үлгілерді және полимеразды тізбекті реакция компоненттерін сақтау</p>

Г. ПТР анықтау аймағы

	<ul style="list-style-type: none"> • Электрофорез құрылғысы Biometra Compact M • гель өлшемі 12,4x14,5 см • 75 үлгіге дейін бөлу • буфер көлемі 580 мл 	<p>Агарозды геледе нуклеин қышқылын күшейту өнімдерінің электрофорездік бөлінуі</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Biometra BDA digital гельдік құжаттама жүйесі • Canon камерасы; - қараңғы бөлме • BDA 2-қорап • UVstar 20 трансиллюминаторы; 19 дюймдік монитормен бар компьютер • Mitsubishi термопринтері;- • BDA бағдарламалық құралы 	<p>Гельдік электрофорез нәтижелерін құжаттау</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Стерилизатор бу автоматты GK-25 • камераның көлемі 25 дм³ 	<p>Сынамаларды қысыммен қаныққан су буымен зарарсыздандыру</p>
	<p>PPSQ сериялы протеин секвенерлер PPSQ-51A/53A</p>	<p>Амин қышқылы қалдығын сәйкестендіру туындының (PTH-AA) сақтау уақытын сәйкес стандартты үлгінің ұстау уақытымен салыстыру арқылы жүзеге асырылады.</p>

КЕЙС

Ғылыми-зерттеу жұмыстарының базалық түйе шаруашылықтары

Әр аймақтардағы сүтті түйелердің генетикалық қорын бірдейлендіру, жүйелеу және паспорттау. Қазақстанда отандық түйе тұқымдарының аллельдік профилінің генетикалық полиморфизмін ДНҚ технологиясы арқылы зерттеу бойынша зерттеулер бұрын жүргізілмеген.

Қазақстанның оңтүстік-батыс аймағының әртүрлі аймақтарында асыл тұқымды табында селекция үшін 450 бас көлемінде ДНҚ технологиясы бойынша түйелердің сүтті жоғары генотиптері бірегейлендіріліп, жүйеленіп және паспортталынды. Әртүрлі генотипті түйелердің 150 бас жас мал табындары іріктеп алынды.

Генетикалық бақыланатын белгілерін жинау, сақтау және өңдеу бойынша 612 бас түйе бірыңғай жүйе мен деректер базасы құрылды, бұл асыл тұқымды малдардың шығу тегін бақылауға, линияны белгілеуге, жұптау кезінде комбинацияларды таңдауға мүмкіндік береді. ДНҚ- технологиясын қолдану арқылы бірегейлендірілді, паспортталды. «Түйе шаруашылығында селекциялық процесін тиімді басқару технологияларын әзірлеу, генетикалық ресурстарын сақтау және жетілдіру технологиясын дайындау» бағдарламасы бойынша популяциялық талдау үшін SNP маркерлеріне таңдау жүргізіліп, 120 SNP маркер таңдалды. Геномдық ДНҚ түйелердің 1046 қан үлгісінен бөлініп алынып, олар генотиптеліп, бірегейлендірілуде, жүйеленуде және паспортталуда.

Иллюстрация



ФЕРМЕРЛЕРГЕ ҰСЫНЫСТАР

1. Түйелердің генетикалық қорларын ДНК-технологиясын қолдану арқылы генотиптеу процесін іске асыру қажет.
2. Түйе шаруашылығында селекциялық-асылдандыру жұмыстарында гендік маркерлерді қолдану арқылы малдарды іріктеуде және жұптауда генетикалық сараптама жасалыну керек.
3. Фермерлер шаруашылықтарында ДНК-технологиясын қолдану арқылы түйелерді бірегейлендіріп, жүйелендіріп, оларды паспорттау мәселесін қолға алу қажет.

«Оңтүстік-Батыс мал және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС
Басқарма төрағасы

Эксперт



С.Ә.Қаныбеков

А.С.Тенлибаева