



AGRO bilim.kz

NASEC
НАЦИОНАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ
НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР



МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА



АӨК бағыты: Етті және сүтті мал шаруашылығы

Спикер: Бименова Жанат
Жорлшыбайқызы - PhD.,
қауымдастырылған профессор

Вебинар тақырыбы: Ірі қара малдарды репродуктивтік қызметін бағалау және қолдан ұрықтандыруда спермийлердің ұрықтандырғыш қабілетін молекулярлық-генетикалық тәсілдермен балау.

Өткізілетін күні:
18.09.2025
уақыты: 15.00



Мақсаты - Ірі қара малдардың репродуктивтік қызметін жақсарту мақсатында қолдан ұрықтандыруда спермийлердің ұрықтандырғыш қабілетін молекулярлық-генетикалық әдістер арқылы анықтау және бағалау.

Міндеттері:

1. Ірі қара малдардың репродуктивтік қызметін жалпы сипаттау және қолдан ұрықтандыру әдісінің маңыздылығын түсіндіру.
2. Спермийлердің ұрықтандырғыш қабілеті мен оның малдың репродуктивтік көрсеткіштеріне әсерін зерттеу.
3. Молекулярлық-генетикалық тәсілдердің түрлерін және оларды спермийлердің сапасын бағалауда қолдану мүмкіндіктерін қарастыру.
4. Репродуктивтік қызметті жақсарту мақсатында молекулярлық-генетикалық әдістердің практикалық маңыздылығын анықтау.

Өнімділікті арттыру: Молекулярлық-генетикалық әдістер спермийлердің ұрықтандырғыш қабілетін дәл анықтауға мүмкіндік береді. Бұл қолдан ұрықтандырудың тиімділігін арттырып, төл алу көрсеткішін жоғарылатады.

Тұқым қуалаушылық сапасын жақсарту: Генетикалық талдау фермерлерге ең жақсы тұқымдық материалды таңдауға көмектеседі, нәтижесінде сау және өнімді ұрпақ алынады.

Қаржылық тиімділік: Репродуктивтік көрсеткіштердің жақсаруы мал шаруашылығының табысын арттырады, себебі төл алу мерзімі қысқарады, төлдер саны көбейеді.

Аурулардың алдын алу: Молекулярлық-генетикалық диагностика ұрықтандырудағы мүмкін генетикалық ақауларды ерте анықтауға және оларды болдырмауға мүмкіндік береді.

Қолдан ұрықтандырудың сапасын бақылау: Фермерлер қолдан ұрықтандыру технологиясының әр кезеңінде спермий сапасын нақты бақылай отырып, процедураның тиімділігін арттыра алады.

Тұрақты даму: Репродуктивтік қызметті молекулярлық-генетикалық тәсілдермен бағалау арқылы фермерлер мал басын тиімді өсіріп, шаруашылықтың тұрақты дамуын қамтамасыз етеді.

Іра қара мал шаруашылығы саласында олардың өсіп өнуі ең басты элементтердің бірі болып табылады. Ғалымдардың зерттеулерде 385 гендердің ірі қара малында өсіп өну фенотиптік белгілерімен байланыстары анықталған. Соның ішінде ірі қара малында репродуктивтік қызметпен аса тығыз байланысты екі ген локустары белгілі, олар убиквитин С және убиквитин В. Секвенирлеу нәтижесінде генінің кодтау бөлігінде G/T (rs110366695) SNP полиморфизмі анықталған және синтезделетін пептидтің стоп-кодонана әкеліп соқтыратыны дәлелденген, пептидтің ұзындығы 287 амин қышқылдарына дейін қысқартылған. Аталған SNP полиморфизмдерді ет тұқымдас бұқаларында шәует сапасын анықтауға арналған молекулярлық маркерлер ретінде пайдалануға болады.

Спермий сапасының тұрақсыздығы: Қолдан ұрықтандыруда спермийлердің сапасы мен ұрықтандырғыш қабілетінің өзгермелілігі репродуктивтік нәтижелердің тұрақсыз болуына әкеледі.

Молекулярлық-генетикалық әдістердің қолжетімділігі мен қолдану деңгейінің төмендігі: Көптеген фермерлік шаруашылықтарда бұл әдістер толық қолданылмайды немесе техникалық құрал-жабдықтар жетіспейді.

Спермийдің молекулярлық деңгейдегі зақымдануы: Ұрықтандырғыш қабілетін төмендететін ДНҚ зақымданулары мен басқа да молекулярлық ақауларды анықтаудың қиындығы.

Қолдан ұрықтандыру технологиясының тиімділігін бақылаудың жеткіліксіздігі: Репродуктивтік көрсеткіштерді толық және дәл бағалау үшін кешенді мониторинг жүйелерінің жоқтығы.

Репродуктивтік бұзылыстардың себептерін толық анықтау қиындығы: Спермий сапасының нашарлауына әсер ететін факторларды, соның ішінде қоршаған орта және генетикалық факторларды толық зерттеу қажеттігі.

Квалификацияланған мамандардың жетіспеушілігі: Молекулярлық-генетикалық әдістерді қолданудағы мамандардың аздығы.

Ғылыми зерттеулер мен тәжірибелік қолданудың арасындағы алшақтық: Жаңа молекулярлық-генетикалық әдістердің өндірісте толық пайдаланылмауы.

Молекулярлық-генетикалық диагностиканы енгізу ДНҚ-талдау әдістерін қолдану: Спермийдің ДНҚ зақымдануын анықтау үшін TUNEL, Comet, SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay) әдістерін енгізу.

Генетикалық маркерлерді анықтау: -Спермийдің сапасына және ұрықтандырғыш қабілетіне әсер ететін гендерді (мысалы, антиоксиданттық қорғаныс гендері, митохондриялық гендер) зерттеу.

Эпигенетикалық профайлдау: Спермийдің ұрықтандырғыш қабілетінің эпигенетикалық көрсеткіштерін анықтау.

Заманауи зертханалық құралдар мен технологияларды қолдау жоғары сезімтал молекулярлық-генетикалық құралдарды орнату:Реал-тайм ПТР, флуоресцентті зерттеу құралдары, секвенаторлар.

Автоматтандырылған спермий анализаторларын пайдалану: Морфология, қозғалғыштық және молекулярлық күйін кешенді бағалау үшін.

Қолдан ұрықтандыру технологиясын жетілдіру спермийді іріктеу және тазалау әдістерін жетілдіру: Молекулярлық деңгейде зақымданған спермийді анықтап, жоғары сапалы ұрықтандырғышты іріктеу (мысалы, магниттік-иммуномагниттік іріктеу).

Ұрықтандыру әдістерін молекулярлық деректерге негіздеу: Ұрықтандыру уақытын және әдісін (IVF, ICSI) спермийдің молекулярлық күйіне қарай таңдау.Репродуктивтік көрсеткіштерді кешенді мониторингілеу

Молекулярлық-генетикалық және классикалық репродуктивтік көрсеткіштерді біріктіру: Спермий сапасы, ұрықтандыру тиімділігі, эмбрионның дамуы сияқты көрсеткіштерді кешенді талдау.

Деректерді цифрлық платформада сақтау және талдау: Ұрықтандыру нәтижелерін автоматты түрде тіркеп, молекулярлық көрсеткіштермен корреляция жасау.

Квалификациялы кадрлар даярлау және біліктілікті арттыру мамандарға молекулярлық-генетикалық әдістер бойынша оқыту: Курстар, шеберлік сабақтар ұйымдастыру.

Зертханалық персоналдың практикалық дағдыларын жетілдіру: Жаңадан енгізілген технологияларды қолдануда тәжірибе жинақтау. Ғылыми-зерттеу жұмыстары мен өндірістік практика арасындағы байланысты нығайту.

Ғылыми жобаларға фермерлер мен өндіріс өкілдерін тарту: Жаңа әдістердің нақты өндірісте тиімділігін зерттеу.

Пилоттық жобаларды ұйымдастыру: Молекулярлық-генетикалық тәсілдерді қолданудың нақты жағдайларда тиімділігін көрсету.7. Қаржылық және институционалдық қолдау

Мемлекеттік гранттар мен бағдарламалар арқылы қаржыландыру: Молекулярлық-генетикалық технологияларды дамытуға бағытталған жобаларды қолдау.

Жеке сектордың қатысуын ынталандыру: Технологияларды коммерцияландыруға мүмкіндік беру.

Ірі қара малының өндірісінде аса маңызды көрсеткіштердің бірі олардың фертильдік көрсеткіштері, себебі ол малдың басының өсіп өнуімен тікелей байланысты. Аналық организмдедегі фертильдікке аса үлкен көңіл бөлінеді, осы мақсатта қосалқы репродуктивтік технологиялар қолданылады және генетикалық сұрыптау жүргізіледі, бірақ бұқалардың ұрықтандырғыш қабілетіне аса көп көңіл аударылмай отыр. Ал бұқалардың репродуктивтік қызметін арттыру ірі қара мал шаруашылығында өндірісті оңтайландырумен тікелей байланысты. Бұқалардың фертильдік қасиеттері олардың тәуліктік салмақ қосу, құнажындардың буаз болу көрсеткіштерімен және бұзаулау аралық мерзімінің ұзақтығымен корреляциясы бар. Кейбір зерттеулерде бұқалардың шәуетінің көрсеткіштерімен, концентрациясы, қозғалтқыштығы, патологиялық сепермийлер саны мен ген аллелдерінің арасында корреляциялық байланыс бар екені көрсетілген.

Шетел ғалымдарының жұмыстарына жүргізілген шолу көрсеткеніндей, сиырлардың жыныстық қызметін болжау және оңтайлы генотипті төлдер алу үшін ДНҚ маркерлерін, соның ішінде TNF α , GDF 9 сонымен қатар HH1-HH17 және HCD т.б. локустары бойынша генотип анықтаудың маңызы отандық ғалымдардың зерттеулерінде көрсетілген. Қазіргі таңда, аналық жануарларда репродуктивтік қызметті (фолликулогенез, овуляция, доминатты фолликулдер даму ерекшеліктері) реттейтін гендердің маңызы үлкен.

Асылтұқымды бұқалардан шәует алу, эякулят сапасын зерттеу, репродуктивтік органдарына УДЗ әдісімен сканерлеу, бұқалардың жыныстық қызметін көтеруге бағытталған стимулдеу нобайларын жасау.

Ірі қара малында репродуктивтік қызметпен байланысты SNP полиморфизмдер, биомаркерлер және оларды зерттеудің тәжірибелік маңызы зор. Асыл тұқымды бұқаларды HH4, HH5, HCD, BY және субфертильдік генетикалық ақауларын балау жасау ПТР-РФҰП әдістерімен жүргізіледі. TNP1, TNP2, SPEF2 ген локустары бойынша SNP полиморфизмдер, осы ген аллелдерінің бұқаның шәует сапасымен байланысты.

Қолданылатын андрологиялық зерттеу әдістері

Дәстүрлі зерттеу әдістері:

- Шәуеттің сапасын органолептикалық анықтау;
- Спермилердің белсенділігін анықтау;
- Шәуеттің концентрациясын анықтау.

Инновациялық зерттеу әдістері:

- Спермийлердің ядросындағы протамин мен гистон протеиндерінің мөлшерін анықтау
- ДНҚ Фрагментациясы әдісімен зерттеу.

Спермаанализатор құрылғысымен бұқа шәуетінің сапасын анықтау

Спермаанализатор АФС -500 заманауи құрылғысымен шәуеттің сапасын анықтау



Қолдан ұрықтандыру



Шәует сапасын анықтаудың дәстүрлі әдісі





Мәселелер

Бүгінгі таңда үздік шаруашылықтар бойынша малдардың ұрықтандыру көрсеткіштері, %

Сиыр	Жылқы	Қой
68-85	72-80	88-90

Шешімі

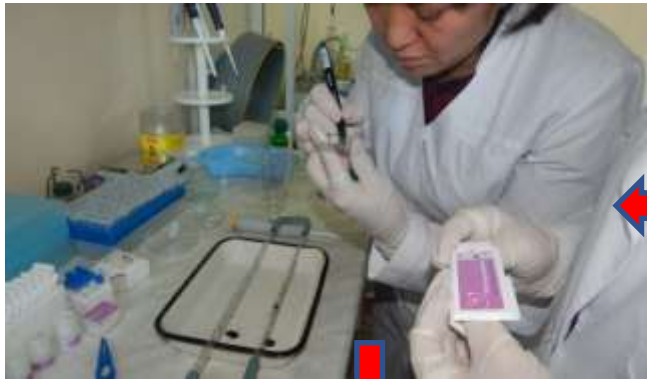
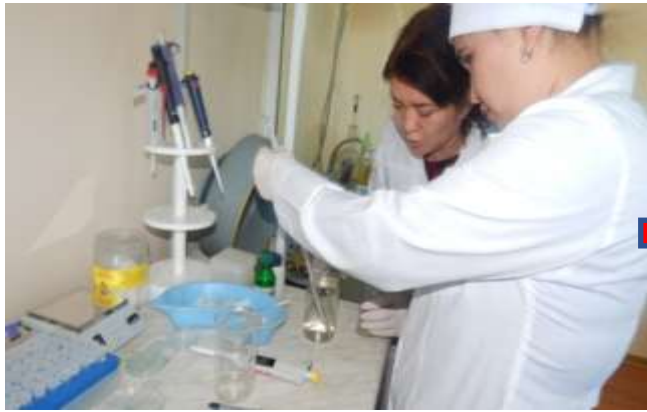
Сиыр	Жылқы	Қой
90	90	100

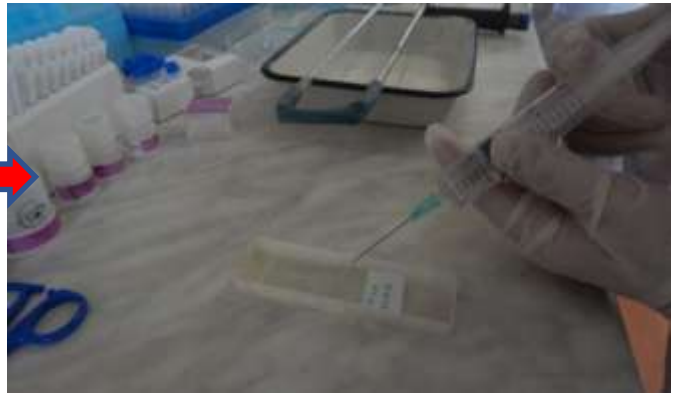
Авторлар өз жұмыстарында асыл тұқымды бұқалардың шәуетіндегі спермийлердегі ДНҚ фрагментациясының деңгейін және спермийлердің ядросындағы протамин мен гистон протеиндерінің мөлшерін анықтаған. Спермийлердің ұрықтану қабілеті спермийлердің хроматиндерінің сақталуымен тікелей байланысты және түрлі қолайсыз факторлар (шәует қатыру кезіндегі технологиялық ақаулар, қатыруға қолданатын криогендік компоненттердің қорғаныс қабілетінің төмен болуы) спермийлердің ДНҚ фрагментациясына ұшырауына әкеліп соқтырады, соның нәтижесінде спермийлердің ұрықтану қабілеті төмендейді. Алынған нәтижелерге сәйкес ұрықтану индексі төмен бұқаларда ДНҚ фрагментациясы деңгейі жоғары болған және ол 7,01 (± 0.71) құраған, ал ұрықтану индексі жоғары бұқаларда аталған көрсеткіш төмен болған 4,13 ($\pm 0,26$).

ДНҚ фрагментациясы деңгейін анықтау техникасы

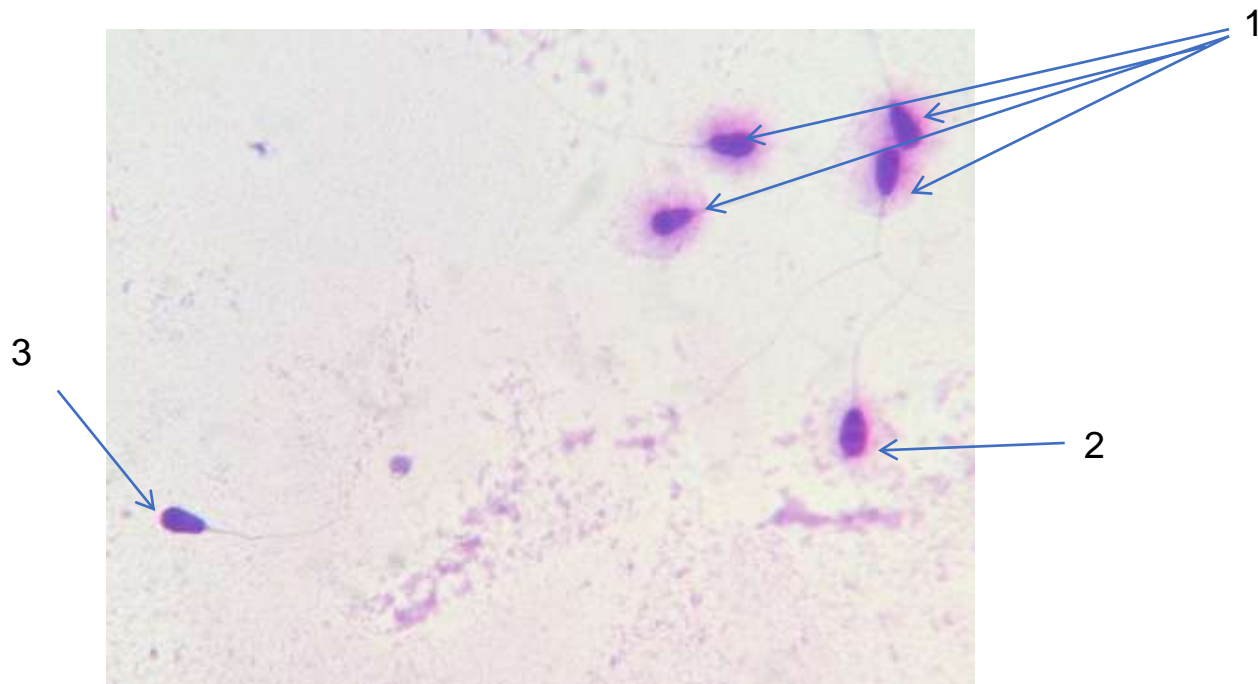
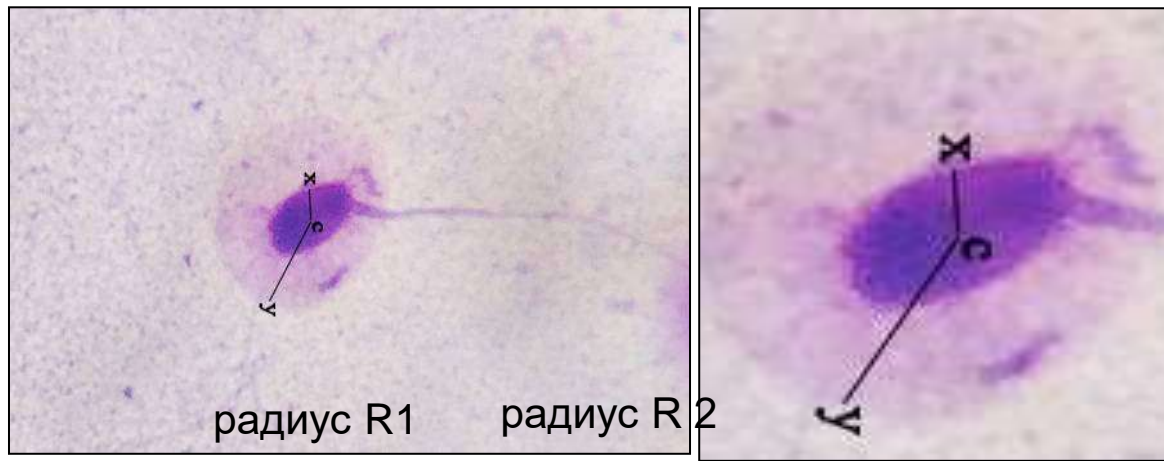
Ішінде агарозасы бар пробирканы 15-20 минутқа 70⁰С температурада су моншасына қоямыз, сонан кейін 5 минут термостатта ұстадық, ондағы температура 37⁰С, осы сәтте шәует үлгісі дайындалады, физиологиялық ертіндіні қосу арқылы шәуеттің концентрациясын 1 мл-де 10-15 млн. мөлшерге дейін төмендетіледі. Пробиркаға 60 мкл шәует қосып, бірнеше рет араластырылады, одан кейін пробирканы термостатқа 37⁰С температураға қойып, шәуеттің агарозамен арласқан қоспасын пипетканың көмегімен заттық шыныға 15-20 тамшысын тамызып, үстінен жапқыш әйнекпен ұқыптап ауа көпіршіктері пайда болмайтындай етіп жауып, заттық шыныны 5 минутқа -2-8⁰С температурада тоңазытқышқа орналастырамыз, сонан соң жапқыш әйнекті ұқыптап алып тастаймыз. Осыдан соң арнайы лотокқа заттық шыныны орналастырып үстіне 8-10 мл I реагентті құйып 7 минутқа қалдырамыз, I-ші реагентті төгіп, заттық шыныны алып сүзгі қағаздың көмегімен кептіріп, заттық шыныны лотокқа орналастырып, үстіне 8-10 мл II реагентті құйып 20 минутқа қалдырамыз. Сосын II-ші реагентті төгіп, тазартылған сумен жуып, заттық шыныны кептіреміз, заттық шыныны көлденең қалыпқа қойып, 1 мл 70% этил спиртін қосып, 2 минутқа қалдырамыз. Содан кейін спиртті төгіп және осы процедураны 96%, 100% этил спирттерімен қайталаймыз. Заттық шынының үстіндегі жағындыға 500 мкл I-ші бояуды 2 минут және 1 мл II-ші бояуды 10-15 минутқа қалдырып сіндіреміз.

«DNA Fragmentation» әдісінің орындалу барысы









**№1 көрсетілген спермийлер ДНҚ фрагментацияға ұшырамаған,
№2 көрсетілген спермийлер ДНҚ фрагментацияға ұшыраған,
№3 көрсетілген спермий дегенерацияға ұшыраған**

Америка ғалымдары ұрықтану индексі жоғары және ұрықтану индексі төмен асыл тұқымды бұқалардың шәуетін молекулярлық-генетикалық әдістермен бағалап, тексерілген тест жүйелерінің нәтижелері мен спермийлердің ұрықтану қабылеті арасындағы оң корреляцияны анықтаған. Сперматогенез үрдісі аталық жануарларда енде орналасқан ирек түтікшелерде жүреді және осы процесстің ұзақтығы 30-40 тәулікті құрайды, нәтижесінде ұрықтануға жарамды белсенді спермийлер түзіледі. Зерттеулерге сәйкес, спермийлер құрамында протамин және гистон протеиндері бар, спермийлердің жетілу дәрежесіне қарай протамин мен гистонның ара қатынасы өзгереді.

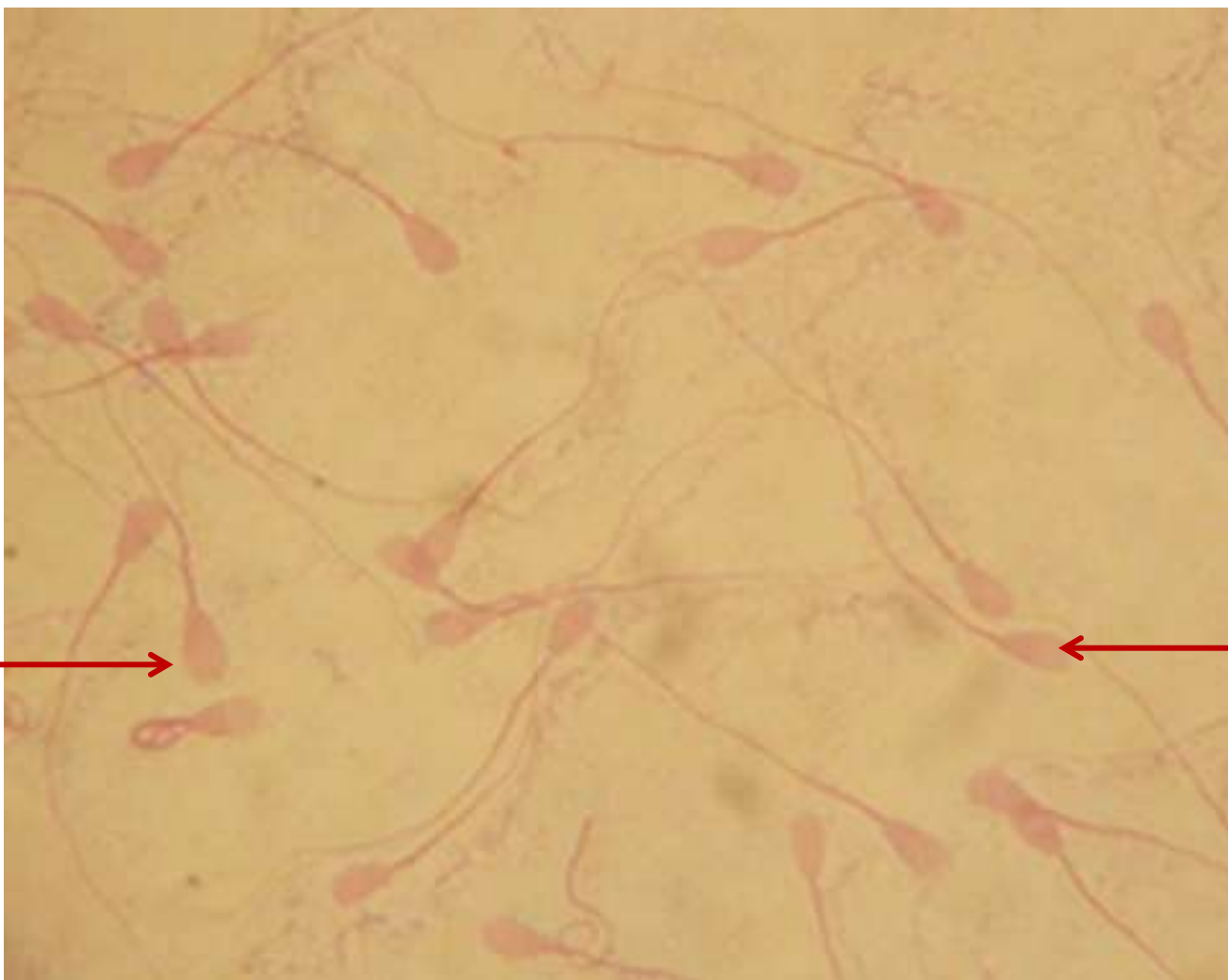
Спермийлер түзілу процессінде және жетілуінде аса маңызды сатылардың бірі спермийлер құрамындағы гистон протеинінің протаминге айналуы. Қалыпты жағдайда жетілген спермилердің хроматинінде шамамен 85%-дан төмен емес деңгейде протамин болады, ал спермийлер толықтай жетілмеген кездерде керісінше гистонның мөлшері 15%-дан жоғары көтеріліп кетеді. Протаминдер жоғарғы деңгейдегі протеиндер болып табылады, олардың құрамында көп мөлшерде аргинин және аз мөлшерде цистеин амин қышқылдары бар. Спермийлердің ядросындағы протеиндердің мөлшерін анықтауға келесі қағидаларға негізделген, құрамында көп мөлшерде лизин амин қышқылы болатын гистон протеині «Aniline Blue» бояуымен бояғанда (спермийлердің бастары қаныққан көк түске) қаныққан көк түске боялады, ал құрамында аргинин және цистеин аминқышқылдары көп протамин протеині күлгін түске боялады.

Аталған әдіс жиі медицинада, ер адамдардың шәуетіндегі спермилер ядросындағы протамин және гистон протеиндерінің мөлшерін анықтауға кең қолданылады. Әдіс жедел жүргізіледі, ер адамға байланысты болған бедеулікке балау жасауда аса маңызды зерттеу тәсілі болып табылады және спермийлер түзілуіне байланысты болған бедеулікті анықтауға мүмкіндік береді.

Спермий ядросындағы протамин және гистон мөлшерін анықтау техникасы

- ❖ Қатырылған, көлемі 100 мкл шәует үлгісіне 400 мкл физиологиялық ерітінді қосып, оны центрифугада жылдамдығы 2000g айналымда 2-3 минут ішінде айналдырдық.
- ❖ Қатырылған бұқа шәуетін, 1 мл шәуеттегі спермийлер саны 40-60 млн болатындай етіп сұйылттық.
- ❖ Дозатордың көмегімен жоғарғы бөліктегі сұйықтықты алып тастап, тұнба бөлігінен 5 мкл сұйықтық алып, заттық шыныға жағынды дайындадық, 5-7 минут ішінде ауада құрғаттық.
- ❖ Заттық шыныны горизонтальдық жағдайда қойып, жағындының үстіне 1 мл бекемдейтін ерітінді тамыздық, ерітінді жағындыны толықтай жабуы керек, ұстау уақытысы 5 минут.
- ❖ 5 минут уақыт өткен соң, бекемдейтін ерітіндіні төгіп, заттық шыныны ішінде дисдильденген су бар ыдыста ұстадық, жағындыны бекемдейтін ерітіндіден тазарттық.
- ❖ Заттық шыныны кептіріп, 5 минут ішінде №1 бояумен боядық, көлемі 1 мл, жағындыны толықтай жабатындай бояу қостық. Сосын бояуды дисдильденген сумен шайып, ауада кептіріп, осы сатыны №2 бояумен қайталадық, ұстау уақытысы 2 минут.
- ❖ препаратты микроскоптың 100X ұлғайтуымен иммерсиялық майды қолдана отырып зерттедік.





Бұқа шәуетіндегі спермийлердегі протамин мен гистон протеиндерін микроскоппен анықтау

Сүт өндіретін ірі қара мал шаруашылықтарында сиырлар мен құнажындардың генетикалық потенциалын көтеру мақсатында оладың генотиптерін $TNF\alpha$, GDF 9 сонымен қатар HH1-HH17 және HCD т.б. локустары бойынша анықтау, оңтайлы генотипті төлдер алуға мүмкіндік береді.

Асыл тұқымды бұқалардың спермийлерінің ұрықтану қабылетін *in vitro* жағдайында анықтауға дәстүрлі әдістермен қатар спермийлердегі ДНҚ фрагментация деңгейін анықтауды және спермий ядроларындағы протамин және гистон протеиндерінің мөлшерін зерттеуді ұсынамыз.

Спермий сапасын тұрақты түрде тексерістен өткізу: Қолдан ұрықтандыру алдында спермийлердің ұрықтандырғыш қабілетін молекулярлық-генетикалық әдістер арқылы бағалауды ұйымдастырыңыз.

Жоғары сапалы тұқымдық материал таңдау: Генетикалық маркерлерге негізделген таңдауды қолданыңыз, бұл төлдің өнімділігі мен денсаулығын арттырады.

Қолдан ұрықтандыру технологиясын жетілдіру: Технологиялық процесстерді қадағалап, процедураларды белгіленген стандарттарға сәйкес жүргізіңіз.

Мамандармен жұмыс жасау: Репродуктивтік қызмет пен молекулярлық-генетикалық зерттеулер саласындағы кәсіби мамандардың көмегіне жүгініңіз.

Қоршаған орта мен күтімге көңіл бөлу: Малдың жалпы денсаулығы мен стресс деңгейін төмендету арқылы репродуктивтік қызметті жақсартыңыз.

Тұрақты мониторинг жүргізу: Репродуктивтік көрсеткіштер мен ұрықтандыру нәтижелерін үнемі бақылап, деректер негізінде шешім қабылдау қажет.

Жаңа технологияларды енгізу: Молекулярлық-генетикалық әдістерді енгізу арқылы мал шаруашылығындағы өнімділікті арттыру мүмкіндігін пайдаланыңыз.

**Назар салып тыңдағандарыңызға
рахмет!**