

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности «6D070100 – Биотехнология»

АМАНДЫКОВОЙ МАҚПАЛ ДУМАНҚЫЗЫ

«Изучение генетического разнообразия и генома популяций казахстанских верблюдов»

Общая характеристика диссертационной работы. Диссертация посвящена изучению генетического разнообразия и генома популяций верблюдов Казахстана, оценке их межвидовой дистанции и сравнительному анализу их филогенетического сходства.

Актуальность темы исследования. Верблюдоводство является одной из ведущих отраслей сельского хозяйства во всем мире, уровень использования продуктов верблюдоводства увеличивается с каждым годом. Верблюды широко используются для производства высококачественного молока, мяса и шерсти и являются важным биологическим видом с точки зрения экологической устойчивости. Кроме того, благодаря своей высокой приспособленности к условиям пустынных регионов эти животные вносят незаменимый вклад в процесс экономического развития. Генетическая характеристика отдельных видов и пород верблюдов считается основой их устойчивого использования. Таким образом, характеризуя верблюдов на уровне фенотипической и генотипической изменчивости, закладываются основы оптимизации селекционных программ по полезным для сельского хозяйства признакам.

В настоящее время во всем мире углубленно изучается структура генома одногорбых (*Camelus dromedarius*) и двугорбых (*Camelus bactrianus*) верблюдов (генетическая изменчивость, молекулярные маркеры, идентификация отдельных генов, идентификация их происхождения, полногеномный анализ и др.). В результате таких исследований было определено что время расхождения одногорбых и двугорбых верблюдов как отдельных видов произошло 4,4-8 миллионов лет назад. Исследования митохондриальной ДНК и ядерных маркеров установили, что дикие верблюды (*Camelus ferus*) представляют собой отдельный вид и что их генетическое отделение от предков домашних верблюдов произошло примерно 0,6–1,8 миллиона лет назад. В результате развития технологий секвенирования нового поколения стало возможным проводить полногеномное секвенирование генома верблюдов, а данные полногеномного секвенирования были загружены в систему *GenBank*.

Оптимизация целенаправленной селекционной работы путем изучения генов, связанных с продуктивностью верблюдов, и выявления молекулярных маркеров позволит повысить экономическую эффективность верблюдоводства. Например, в последние годы проведен ряд исследований по описанию генов,

отвечающих за молочную и мясную продуктивность и качество шерсти, а также мутаций встречающихся в этих генах.

Однако, не смотря на то, что во всем мире интенсивно идут работы по изучению генетики верблюдов, генетическая структура казахстанских популяций одногорбых и двугорбых верблюдов, а также, их гибридов, которые в последние годы широко используются в отрасли верблюдоводства нашей страны описана слабо.

Таким образом, изучение генетической структуры верблюдов важно для их устойчивого использования в сельском хозяйстве и совершенствования системы управления этой отраслью, а также сохранения их биоразнообразия и понимания особенностей их экологической адаптации и эволюционной истории.

Цель исследования. Изучение генетического разнообразия и генома популяций верблюдов Казахстана, сравнительный анализ их филогенетического сходства.

Задачи исследования:

1. Проведение ПЦР-ПДРФ анализа генов, кодирующих казеиновые белки, отвечающие за качественные свойства верблюжьего молока и статистическая обработка результатов;

2. Осуществление полногеномного секвенирования генома гибридных верблюдов и сравнительный анализ результатов секвенирования с данными полногеномного секвенирования одногорбых, двугорбых и диких верблюдов методами биоинформатического анализа;

3. Анализ генетической структуры исследуемых верблюдов с использованием результатов полногеномного секвенирования.

4. Описание филогенетического сходства изученных верблюдов и проведение сравнительного анализа.

Объекты исследования. Образцы крови и геномной ДНК, выделенной из периферической крови одногорбых, двугорбых и гибридных верблюдов.

Предмет исследования. Описание генетической структуры и генома популяций одногорбых, двугорбых и гибридных верблюдов.

Методы исследования. Метод выделения геномной ДНК из образцов крови, метод количественного и качественного анализа геномной ДНК, метод ПЦР-ПДРФ-анализа, метод полногеномного секвенирования, метод статистической обработки результатов ПЦР-ПДРФ-анализа, метод биоинформатического анализа результатов полногеномного секвенирования.

Научная новизна диссертационной работы.

- Впервые описан полиморфизм казахстанских популяций верблюдов по генам, кодирующим казеиновые белки (*CSN2*, *CSN3* и *CSN1S1*), влияющие на качественные свойства верблюжьего молока, и идентифицированы животные с «полезными» генотипами по изученным SNP;

- Впервые проведено полногеномное секвенирование гибридных верблюдов, полученные первичные данные были загружены в базу данных *GenBank* (номер *BioProject* : PRJNA985411);

- Впервые была описана генетическая структура гибридных верблюдов, а также их филогенетическое сходство с одногорбыми, двугорбыми и дикими верблюдами.

Теоретическая и практическая ценность работы. В результате исследований, проведенных в диссертационной работе, описан полиморфизм популяций верблюдов Казахстана по генам *CSN3*, *CSN2* и *CSN1S1*, кодирующих казеиновые белки верблюжьего молока. Данные генотипирования могут быть использованы как сравнительный материал в дальнейших работах по изучению генетики молочной продуктивности верблюдов. В результате исследований, проведенных на основе анализа данных полногеномного секвенирования одногорбых, двугорбых, гибридных и диких верблюдов, была охарактеризована их генетическая структура, выявлены приватные и общие SNP, описано их филогенетическое сходство. Первичные данные, полученные в результате полногеномного секвенирования гибридных верблюдов были загружены в базу данных *GenBank* и доступны мировому научному сообществу, открывая путь к более глубокому изучению генома гибридных верблюдов.

Результаты исследований, проведенных по полиморфизму генов, кодирующих казеиновые белки верблюжьего молока, и выявлению животных с «полезными» генотипами по изученным SNP, могут быть использованы в селекционных программах, направленных на оптимизацию качественных свойств верблюжьего молока.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Установлено, что точечная мутация g.2126A>G гена *CSN2*, кодирующего белок β -казеин, точечная мутация g.1029T>C гена *CSN3*, кодирующего белок κ -казеин, и точечная мутация g.942G>T гена *CSN1S1*, кодирующего белок α 1-казеин, влияющие на качественные свойства верблюжьего молока распределены неравномерно среди популяций верблюдов, разводимых в Казахстане.

2. В результате определения полиморфизмов SNP в генах *CSN2* и *CSN3* были выявлены животные с «полезными» генотипами для молочного верблюдоводства и рассмотрена возможность использования их в селекционных программах, направленных на оптимизацию качественных свойств верблюжьего молока.

3. На основе первичных данных полногеномного секвенирования охарактеризованы генетическая и популяционная структура, а также, филогенетические сходства одногорбых, двугорбых, диких и впервые гибридных верблюдов.

4. Были выявлены и сопоставлены приватные и общие SNP для одногорбых, двугорбых, диких и гибридных верблюдов. На их основе было определено, что гибридные верблюды по своей генетической структуре ближе к одногорбым верблюдам, чем к двугорбым.

Основные результаты исследований и выводы:

1. В результате изучения полиморфизма генов, кодирующих казеиновые белки, отвечающие за качественные свойства верблюжьего молока, впервые в исследовании выявлены животные с «полезными» генотипами по обоим SNP,

изученных в генах *CSN2* и *CSN3* и которые относятся к «ядру» популяций. Таким образом, 10 % из 100 изученных верблюдов можно отнести к «ядру» популяций, большую часть этих животных составили одnogорбые верблюды (70 %).

2. Анализ данных полногеномного секвенирования одnogорбых, двугорбых, гибридных и диких верблюдов выявил в общей сложности 43,552,164 SNP у всех животных. Самое большее количество SNP было выявлено у гибридных верблюдов, таким образом, распределение SNP по изученным группам верблюдов было следующим: гибридные верблюды (15,904,987 SNP) > одnogорбые верблюды (10,872,754 SNP) > двугорбые верблюды (9,310,730 SNP) > дикие верблюды (7,463,693 SNP).

3. На основе изучения генетической и популяционной структуры одnogорбых, двугорбых, диких и впервые гибридных верблюдов было установлено, что генетическая структура гибридных верблюдов ближе к одnogорбым верблюдам, чем к двугорбым. Количество общих SNP для гибридных и одnogорбых верблюдов (4,617,974 SNP), было намного выше, чем количество общих SNP для гибридов и двугорбых верблюдов (776,978 SNP).

4. По результатам филогенетического анализа гибридные верблюды находились в одной ветви филогенетического дерева с одnogорбыми верблюдами и показали к ним близкое родство. Тот факт, что дикие верблюды *Camelus ferus* были расположены в отдаленной ветви филогенетического дерева от групп одомашненных верблюдов, позволяет предположить, что они представляют собой генетически изолированную популяцию.

Личный вклад автора. Разработка и постановка лабораторных работ и проведение исследований по теме диссертации осуществлялись при личном участии автора.

Связь с планом основных научных работ. Диссертационная работа была выполнена в рамках проектов КН МНВО РК OR11465435 «Разработка и применение новых геномных технологий защиты организмов от мутагенного влияния, повышения продуктивности природных ресурсов и улучшения качества жизни населения» (2021-2022 гг.) и AP14870678 «Исследование генетического разнообразия и популяционно-генетической структуры верблюдов *Camelus dromedarius* и *Camelus bactrianus* в Казахстане» (2022-2024 гг.).

Апробация работ. Результаты исследования по данной диссертационной работе были представлены и обсуждены на следующих международных научных конференциях:

- VI международная научная конференция молодых ученых и студентов, г. Шымкент, Республика Казахстан, 7-8 декабря 2018 г.;

- Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби әлемі», г. Алматы, Республика Казахстан, 6-9 апреля 2020 г.;

- Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби әлемі», г. Алматы, Республика Казахстан, 6-8 апреля 2021 г.

Публикации. Основные результаты диссертации опубликованы в 7 печатных научных работах, в том числе в 2 статьях в высокорейтинговых научных журналах включенных в базы *Web of Science* и *Scopus* с показателем Q2 (*SJR* – 0.641, процентиль – 71; *SJR* – 0.924, процентиль - 51); 2 статьи в отечественных периодических изданиях, рекомендованных Комитетом контроля в сфере образования и науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан; 3 тезиса опубликованы в материалах международных конференций. По результатам диссертационной работы получены 2 акта о внедрении.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 86 страницах компьютерного текста, оформленного с соблюдением необходимых стандартов и включает нормативные ссылки, обозначения и сокращения, введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследований и их обсуждение, заключение. Диссертация содержит 22 рисунок, 13 таблиц и 3 приложений. Список использованной литературы содержит 171 источников.