

4. Кубентаева Арай Бекболатовна – зерттеу жұмыстарына қатысып, өңдеді және әдебиеттер тізімін дайындады.

ГТАХР 34.31.15

DOI <https://doi.org/10.37884/3-2025/05>

Ермекова М.Ш.^{1,2}, Бектасов З.Б.^{1,2}, Қожахмет А.Т.^{1,2},
Досыбаев К.Ж.^{1,2}, Қапасұлы Т.^{1,2} Амзеев Р.Е.³, Амандықова М.Д.¹

¹«Қазақ мал шаруашылығы және жеміс-өнімдері өндірісі ғылыми-зерттеу институты»
ЖШС, Алматы қ., Қазақстан, nurii_90@mail.ru, bekhtasov2004@mail.ru, tilek.kapas@mail.ru,
kairat1987_11@mail.ru, altynaitg@gmail.com, makpal_30.01@mail.ru

²Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы қ., Қазақстан,
nurii_90@mail.ru, bekhtasov2004@mail.ru, altynaitg@gmail.com, kairat1987_11@mail.ru,

³Абай атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Алматы қ., Қазақстан,
rauanbiolog@mail.com

ҚАЗАҚТЫҢ ҚҰЙРЫҚТЫ ҚЫЛШЫҚ ЖҮНДІ ҚОЙ ТҰҚЫМЫНДА *IGFBP3* ГЕНІНІҢ ПОЛИМОРФИЗМІН АНЫҚТАУ ЖӘНЕ ФИЛОГЕНЕТИКАЛЫҚ ТАЛДАУ

Аңдатпа

Бұл зерттеу қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымында *IGFBP3* генінің полиморфизмін зерттеуге бағытталған. Зерттеуде РФҰП және Сэнгер әдістері қолданылды. 380 қой үлгісінің перифериялық қандарынан ДНҚ алынып, оның сапасы мен концентрациясы спектрофотометрия және агарозды геледе электрофорез арқылы анықталды. *IGFBP3* генінің полиморфизмдерін анықтау үшін ПТР және *NaеIII* рестриктаза ферментімен өңдеу жұмыстары жүргізілді, нәтижесінде 6 болжамды полиморфизм анықталды. Секвенирлеу нәтижесінде 335 позицияда C>G ауысуы және 111 Ala>Gly амин қышқылының ауысуынан туындаған миссенс мутациясы анықталды. Алынған мәліметтер негізінде қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымының NCBI базасындағы басқа қой тұқымдарымен филогенетикалық талдау жасалды. Филогенетикалық ағаш екі кластерден құралды. Осы зерттеу *IGFBP3* генінің полиморфизмін қолдана отырып, қой тұқымдарының селекциялық жұмыстарын жетілдіруге мүмкіндік береді.

Бұл зерттеу нәтижелері қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымында өнімділікке әсер етуі ықтимал генетикалық маркерлердің болуын алғаш рет ғылыми тұрғыда дәлелдеді. Алынған деректер генетикалық ресурстарды тиімді пайдалану және жергілікті қой тұқымдарының бейімделгіш қасиеттерін сақтау үшін маңызды. Зерттеу нәтижелері халықаралық ғылыми базаға салыстыру арқылы верификацияланғандықтан, алынған тұжырымдар сенімді әрі қолданбалы маңызы жоғары.

Кілт сөздер. *IGFBP3* гені, полиморфизм, ПТР, Сэнгер әдісі, секвенирлеу, гетерозиготалы генотип, филогенетикалық талдау, қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой, генетикалық маркерлер, қой тұқымы.

Кіріспе

Қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымы Қазақстанның мал шаруашылығында маңызды орын алады, себебі бұл тұқымның жоғары өнімділігі мен бейімделгіштігі оны өте тиімді етеді [1]. Бұл қой тұқымының ерекшелігі оның климаттық жағдайларға және қоршаған ортаға бейімделуі, сондай-ақ өнімділігінің жоғарылығы.

Қазіргі мал шаруашылығында өнімділікке бағытталған селекциялық жұмысты жетілдіру үшін жануарлардың генетикалық құрылымын молекулалық деңгейде зерттеу аса маңызды. Әсіресе, өнімділік белгілерімен тығыз байланысқан гендердің полиморфизмін анықтау

арқылы жануарлардың тұқымдық құндылығын ерте кезеңде бағалауға мүмкіндік туады. Осы тұрғыдан алғанда, қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымында *IGFBP3* генінің полиморфизмін зерттеу жануарлардың еттілік әлеуетін бағалау және филогенетикалық қатынастарды анықтау үшін ғылыми әрі практикалық мәнге ие [2].

Генетикалық маркерлерді қолдану өсімталдық пен өсу процестерін жетілдіруге мүмкіндік береді. *IGF* ақуызы клеткалардың өсуі мен метаболизмін, сондай-ақ бұлшықет, тері және сүйек ұлпаларының өсуі, пролиферациясы мен иммундық жүйеге әсер етеді. *IGFBP3* генінің құрылымында 5 экзон және 4 интроннан тұратын пішін бар және 4 хромосоманың қысқа иығында орналасқан [3].

IGFBP3 ақуызының құрылымында 293 амин қышқылы бар және 3 құрылымды доменге ие: NH₂-терминальді (N-соңы), орталық байланыстырушы және COOH-терминальді (C-соңы) домендер. Орталық байланыстырушы домен *IGF*-мен байланысудың басты аймағы болып табылады, ал N-соңы және C-соңы домендері *IGFBP3* ақуызының функционалдығы мен клеткадағы әсерін реттейді [5].

IGFBP3 ақуызының N-соңындағы амин қышқылдары, мысалы, цистейндер мен сериндер, оның байланыс қабілетін және клеткаларға ену мүмкіндігін анықтайды [6]. Қазіргі уақытта генетикалық полиморфизмдердің мал шаруашылығында өнімділікті арттыруда маңызды рөл атқаратыны анықталған. *IGFBP3* ақуызының клеткаларға енуі эндоцитоз арқылы жүзеге асады, бұл процесс арнайы рецепторлар арқылы белсендіріледі [7].

Қой тұқымдарының өнімділігін арттыру мақсатында *IGFBP3* генінің полиморфизмін зерттеу маңызды. Бұл геннің өзгерістері малдың өсу қарқынына, ет өнімділігіне және жалпы денсаулыққа әсер етуі мүмкін. *IGFBP3* генінің полиморфизмдері *IGF* белсенділігін реттейтін молекулалық маркер ретінде қой шаруашылығында қолданылуы ықтимал, ол өнімділікті жақсартуда және ауруларға төзімділікті арттыруда маңызды рөл атқарады [8][9].

Соңғы зерттеулер көрсеткендей, *IGFBP3* гені жануарлардың физиологиялық процестеріне ғана емес, сонымен қатар стресс факторларына жауап реакциясына да қатысады. Бұл геннің экспрессиясы сыртқы ортаның температуралық ауытқулары, азықтандыру жағдайлары және иммундық жүйенің белсенділігіне байланысты өзгереді [10].

Сонымен қатар, *IGFBP3* генінің полиморфизмімен байланысты *SNP*-маркерлер малдың гетерозиготалық деңгейін бағалауда және асылдандыру бағдарламаларында пайдалы болып табылады. Бұл маркерлердің көмегімен селекционерлер өнімділік белгілерін анықтауға және болжауға мүмкіндік алады [11]. *IGFBP3* гені жасуша апоптозын, митозды және регенерация процестерін реттейтін негізгі фактор ретінде де қарастырылады. Әсіресе, бұл ген бұлшықет ұлпасының регенерациясы мен дамуына байланысты зерттеулерде кеңінен қолданылады [12].

Жануарлар генетикасындағы тағы бір маңызды аспект – *IGFBP3* генінің басқа гендермен өзара әрекеттестігі. Бұл ген *IGF1*, *GHR* (өсу гормоны рецепторы) және *MSTN* (миостатин) гендерімен қатар әрекет етіп, кешенді регуляторлық жүйе құрайды. Осы байланыстың талдануы қой тұқымының өнімділік көрсеткіштерін кешенді бағалауға мүмкіндік береді [13]. *IGFBP3* генінің зерттелуі тек өнімділік белгілеріне ғана емес, сонымен қатар иммундық тұрақтылыққа да әсер ететіндігін дәлелдейтін зерттеулер бар. Бұл геннің жоғары экспрессиясы инфекциялық ауруларға төзімділік деңгейін жоғарылатуы мүмкін деген болжам бар [14].

Зерттеу әдістері

Зерттеу жұмыстары үшін Шығыс Қазақстан және Алматы облысының Оңтүстік-Шығыс аймағындағы 7 қой шаруашылығынан қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымының 380 басынан қан үлгілері алынды. Қан үлгілері "Медхан" шаруашылығынан 20 үлгі, ал қалған 6 шаруашылықтан 60 үлгіден жинақталды.

Қой тұқымынан биологиялық үлгі ретінде қан алу. Қан үлгілерін алу білікті мал дәрігерлері көмегімен жүзеге асырылды.

Перифериялық қан қойдың күре тамырынан натрий гепарині бар вакуумды пробиркаларға алынды. Қан үлгілері арнайы мұздатқыш контейнерлерде төмен температурада тасымалданып, зертханаға жеткізілді. Зертханада үлгілер -20°C мұздатқыштарда сақталды.

Қан үлгісінен ДНҚ бөліп алу. ДНҚ бөліп алу үшін ThermoFisher Scientific компаниясының Genomic DNA Purification Kit жиынтығы қолданылды. Алдымен қанды клетка лизис буферімен өңдеп, Proteinase K қосылды. Инкубациялау 56°C температурада 20 минут жүргізілді. Кейін RNase қосылып, ДНҚ 50% этанолмен тазаланды, соңында спин-колонкалар арқылы центрифугаланды. Бөлінген ДНҚ -20°C мұздатқышта сақталды.

ДНҚ үлгісіне сандық-сапалық талдау жүргізу. ДНҚ молекуласының концентрациясы мен тазалығы NanoDrop 2000 спектрофотометрі арқылы өлшенді (230 нм, 260 нм, 280 нм толқын ұзындықтары бойынша). Сандық-сапалық талдау үшін 0,8% агарозды геледе көлденең электрофорез жасалып, E-BOX CX5 құрылғысы арқылы визуалды анықталды.

IGFBP3 амплификациялау үшін қажетті праймер синтезі. IGFBP3 генін амплификациялау үшін праймерлер Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, АҚШ) компаниясында синтезделді..

Полимеразды тізбекті реакция (ПТР). IGFBP3 генін амплификациялау үшін экстракцияланған ДНҚ, ионсыз су, PCR master mix жиынтығы және праймерлер қолданылды. ПТР реакциясы SimpliAmp™ Thermal Cycler құрылғысымен жүргізілді. Праймерге арнайы бағдарлама бойынша жылынған микс ультра күлгін рецикуляторда араластырылып, ПТР құрылғысында циклдарда жүргізілді.

Агарозды геледе көлденең электрофорез. ПТР өнімдерінің дұрыс амплификациясын тексеру үшін агарозды геледе көлденең электрофорез жасалды. Электрофорез маркер ретінде Thermo Scientific TriTrack 100 bp Plus қолданылды, ампликонның салмағы 654 ж.н екенін анықтау үшін гель УК сәулесімен қарастырылды.

РФҰП әдісі арқылы IGFBP3 генінің полиморфизмін анықтау. Рестрикциялық эндонуклеазалармен талдау жүргізу үшін, NCBI базасынан IGFBP3 геніне қажетті рестриктазалар таңдалып, оларды қолдана отырып, РФҰП әдісі арқылы полиморфизмдер анықталды. Реакция инкубациясы 36°C температурада SimpliAmp™ Thermal Cycler құрылғысында жүргізілді.

Сэнгер әдісі арқылы секвенирлеу. Сэнгер әдісі бойынша секвенирлеу үшін ампликондар ExoSAP-IT реакгентімен тазартылды. Секвенирлеу реакциясы BigDye Terminator 3.1 Ready Reaction Mix көмегімен орындалып, алынған өнімдер SAM solution және BigDye XTerminator™ шешімдері арқылы тазартылды. Секвенирлеу нәтижелері BioEdit, MEGA 11 және SMS 2 бағдарламаларында талданды.

Зерттеу нәтижелері

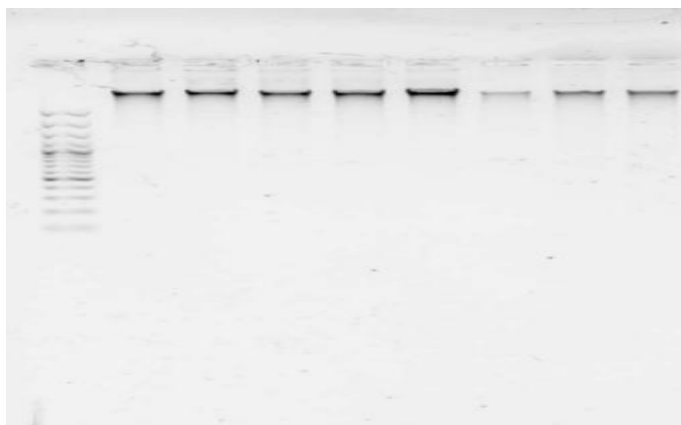
Зерттеу барысында ДНҚ молекулаларының концентрациясы мен тазалығы NanoDrop 2000 (ThermoFisher Scientific, АҚШ) спектрофотометрі арқылы өлшенген ДНҚ молекулаларының концентрациясы 230 нм, 260 нм және 280 нм толқын ұзындықтарында анықталды. 260 нм және 280 нм толқын ұзындықтарындағы оптикалық тығыздықтың қатынасы (A260/A280) тазалық деңгейін бағалауға мүмкіндік берді. Бұл көрсеткіштер ДНҚ үлгілерінің жоғары сапалы екенін және дұрыс бөлінгенін көрсетеді. Концентрация мен тазалық көрсеткіштері сәйкес келетін диапазонда болды, бұл алынған ДНҚ-ның зерттеуге жарамды екенін дәлелдейді, нәтижелер келесі суретте кесте түрінде берліген.

#	Sample ID	User name	Date and Time	Nucleic Acid	Unit	A260 (Abs)	A280 (Abs)	260/280	260/230	Sample Type	Factor
1		User	24.05.2025 15:45:46	33,2	ng/µl	0,663	0,385	1,72	0,84	DNA	50,00
2		User	24.05.2025 15:47:44	29,6	ng/µl	0,591	0,346	1,71	0,68	DNA	50,00
3		User	24.05.2025 15:48:46	26,7	ng/µl	0,533	0,412	1,29	0,31	DNA	50,00
4		User	24.05.2025 15:49:49	44,2	ng/µl	0,883	0,514	1,72	0,89	DNA	50,00
5		User	24.05.2025 15:50:53	48,2	ng/µl	0,963	0,554	1,74	1,00	DNA	50,00
6		User	24.05.2025 15:52:20	74,1	ng/µl	1,482	0,826	1,80	1,20	DNA	50,00
7		User	24.05.2025 15:53:19	41,6	ng/µl	0,833	0,479	1,74	0,88	DNA	50,00
8		User	24.05.2025 15:54:18	51,4	ng/µl	1,028	0,585	1,76	1,00	DNA	50,00

Сурет 1.Зерттеу жұмысында қолданылған бөлінген ДНҚ молекуласының концентрациясы

ДНҚ молекулаларының сапасы мен концентрациясы агарозды геледе көлденең электрофорез арқылы қосымша тексерілді. 0,8% агарозды геледе (50W, 50V, 30mA, 40 минут) талдау жүргізілді.

Гель құжаттаушы құрылғы E-BOX CX5 (Vilber, Франция) көмегімен визуалды түрде талданып, ДНҚ фрагменттері дұрыс көлемде екенін көрсетті (Сурет 1).



Сурет 2. Қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымнан бөлініп алынған ДНҚ электрофореграммасы

Зерттеу барысында *IGFBP3* генін амплификациялау үшін пайдаланылған праймерлер Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, АҚШ) компаниясында синтезделіп, зертханаға лиофилді күйде жеткізілді. Праймерлердің реттілігі мен молекулалық массасы анықталды, *IGFBP3 Forward праймері* 654 ж.н молекулалық массасына ие болса, *Reverse праймері* сәйкесінше 654 ж.н болды (Кесте 1).

Кесте 1- SNP маркерлерді анықтауда қажет праймер реттілігі

№	Атауы	Праймерлер реттілігі	Молекулалық массасы
1	IGFBP3	Forward 5'-CCAAGCGTGAGACAGAATAC-3' Reverse 5'-AGGAGGGATAGGAGCAAGAT-3'	654 ж.н.

Синтезделген праймерлердің концентрациясы мен тазалығы NanoDrop 2000 спектрофотометрі арқылы тексерілді. *IGFBP3 Forward* праймерінің концентрациясы 289.8 нг/мкл, ал *IGFBP3 Reverse* праймерінің концентрациясы 285.4 нг/мкл болды. A260/A280 арақатынасы 1.93 және 2.19 болғанда, праймерлердің тазалығы жақсы деңгейде екендігін көрсетті. A260/A230 қатынасы да *IGFBP3 Forward* праймері үшін 1.02 және *IGFBP3 Reverse* праймері үшін 1.65 көрсеткіштерін көрсетті, бұл олардың ластануының төмен екенін және келешек молекулалық талдауларға жарамдылығын растайды (Кесте 2).

Кесте 2- Синтезделген праймер концентрациясы

№	Атауы	нг/мкл	A260/280	A260/230
1	IGFBP3 Forward	289.8	1.93	1.02
2	IGFBP3 Reverse	285.4	2.19	1.65

Бұл нәтижелер зерттеу барысында қолданылған праймерлердің жоғары сапасын және дәлдігін көрсетеді, олар әрі қарай амплификация мен полиморфизмдер талдауына тиімді қолдануға дайын екенін дәлелдейді.

IGFBP3 генінің амплификациясы үшін полимеразды тізбекті реакция (ПТР) сәтті жүргізілді. ПТР реакциясында экстракцияланған геномдық ДНҚ, ионсыздырылған су, PCR master mix жиынтығы, және сұйытылған F және R праймерлері қолданылды. Жалпы реакция

көлемі 20 мкл болды, оның ішінде 7,3 мкл ионсыз су, 10 мкл *PCR master mix* (2X), 0,7 мкл F праймері, 0,7 мкл R праймері және 1 мкл экстракцияланған ДНҚ қосылды.

ПТР процессі SimpliAmp™ Thermal Cycler (ThermoFisher Scientific, Singapore) құрылғысында арнайы бағдарлама бойынша жүргізілді. Барлық реакция қадамдары ультра күлгін рецикуляторы бар ПТР боксында өтті, реакция қоспасы үстелдік центрифугада араластырылды.

Амплификация нәтижесінде *IGFBP3* генінің амплификаттары алынғаннан кейін, олардың дұрыс амплификацияланғаны және күтілетін мөлшерде екендігі анықталды. Бұл нәтижелер зерттеу мақсатына сәйкес келетін амплификацияның сәтті жүзеге асқанын және келешек талдаулар үшін жарамды үлгілер алынғанын көрсетті.

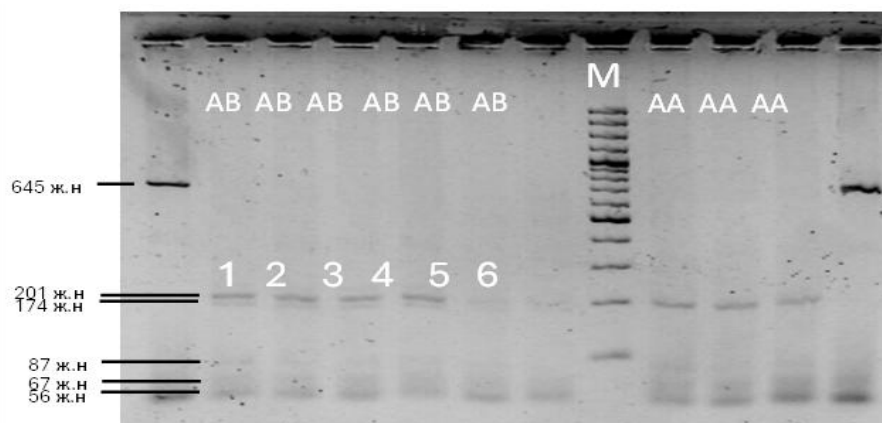
Зерттеу барысында *IGFBP3* генінің полиморфизмін анықтау үшін 380 қойдың үлгісінен ПТР амплификациясы және РФҰП әдісі арқылы талдау жүргізілді. Амплификация нәтижесінде 654 ж.н. болатын ампликондар алынды. Алынған ампликондар Нае III рестриктаза ферментімен өңделіп, 3% агарозды геле электрофорез арқылы тексерілді.

Кесте 3- *IGFBP3* генінің 7 шаруашылық бойынша *IGFBP3* генінің кездескен полиморфизм дәрежесі

Шаруашылық атауы	n-саны	Генотип	%	Аллель жиілігі
Медхан	20	AA-19 AB-1 BB-0	AA-95 AB-5 BB-0	A-0,975 B-0,025
Нұр	60	AA-60 AB-0 BB-0	AA-100 AB-0 BB-0	A-1 B-0
Разахун	60	AA-58 AB-2 BB-0	AA-96,6 AB-3,33 BB-0	A-0,983 B-0,017
Шаушен	60	AA-57 AB-3 BB-0	AA-95 AB-5 BB-0	A-0,975 B-0,025
Токан-1	60	AA-60 AB-0 BB-0	AA-100 AB-0 BB-0	A-1 B-0
Елькентай	60	AA-60 AB-0 BB-0	AA-100 AB-0 BB-0	A-1 B-0
Алкол-Агро	60	AA-60 AB-0 BB-0	AA-100 AB-0 BB-0	A-1 B-0
Жалпы	380	AA-374 AB-6 BB-0	AA-91,3 AB-8,7 BB-0	A-0,9921 B-0,0078

Нәтижелер бойынша «Медхан» шаруашылығынан 12 үлгіде, «Шаушен» шаруашылығынан 32, 36, 40 үлгілерде және «Разахун» шаруашылығынан 2 және 3 үлгілерден барлығы 6 үлгіде *IGFBP3* генінің болжамды гетерозиготалы полиморфизмі анықталды. Генотиптердің кездесу жиілігі «Медхан» шаруашылығында 5%, «Шаушен» шаруашылығында 5%, «Разахун» шаруашылығында 3,33% құрады. Жалпы алғанда, барлық 380 үлгіде полиморфизмнің жиілігі 8,7% болды.

Аллельдер жиілігі бойынша, «Медхан» шаруашылығында А аллелі - 0,975, В аллелі - 0,025, «Разахун» шаруашылығында А аллелі - 0,983, В аллелі - 0,017, «Шаушен» шаруашылығында А аллелі - 0,975, В аллелі - 0,025 болды. Жалпы зерттеу нәтижесінде барлық 380 үлгіде А аллелі жиілігі 0,9921, В аллелі жиілігі 0,0078 болды.

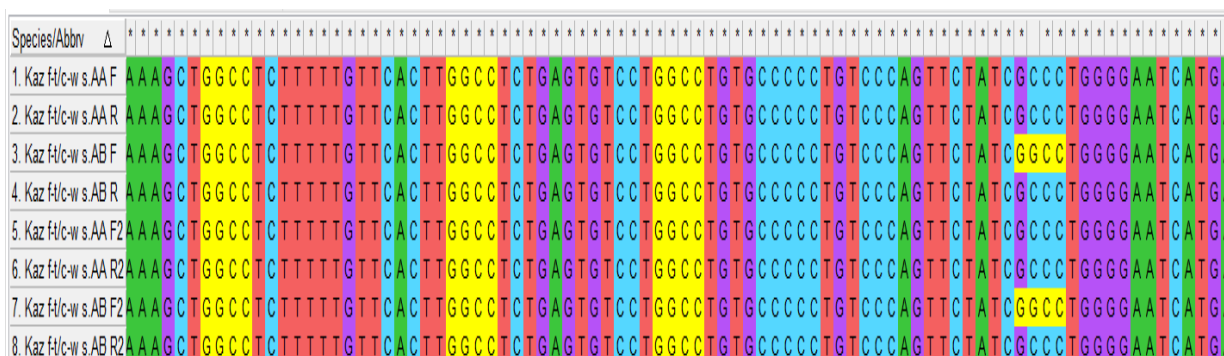


Сурет 3.IGFBP3 генінің ПТР және РФҰП талдауларының нәтижесі.

Р- ПТР өнімі; 1-«Медхан» шаруашылығының үлгісі; 2, 3, 4 «Шаушен» шаруашылығының үлгісі; 5, 6 «Разахун» шаруашылығының үлгісі. АА гомозиготалы жабайы генотип, АВ гетерозиготалы болжамды генотип.

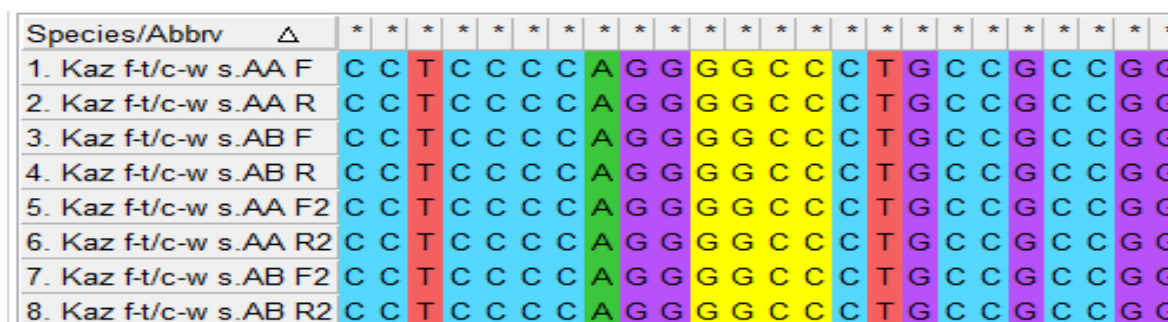
Бұл зерттеудің нәтижелері *IGFBP3* генінің полиморфизмін анықтау арқылы қой тұқымдарының ет өнімділігі мен өсу көрсеткіштеріне әсер ететін генетикалық маркерлерді анықтауға мүмкіндік береді. Қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымында ДНҚ молекуласынан *IGFBP3* генінің нуклеотидтер тезбегін анықтау және РФҰП талдау нәтижесінде іріктелген үлгілерге секвенирлеу жүргізілді.

Секвенирлеу нәтижесінде мақалаларда кездескен болжамды полиморфизм 6 үлгіде анықталды (Сурет 3).



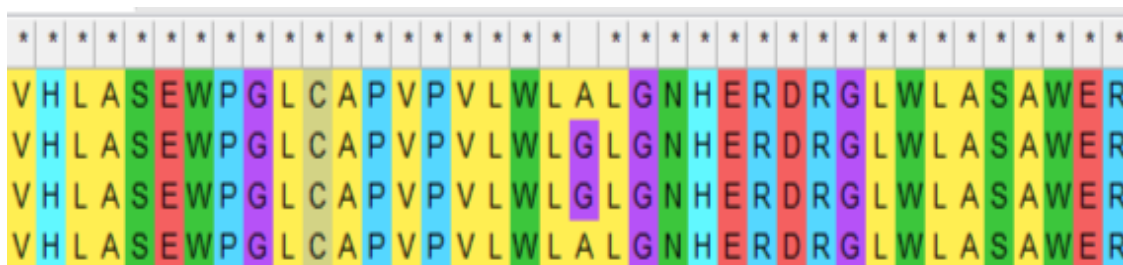
Сурет 4. MEGA 11 қолдана, 4 үлгінің *IGFBP3* генінің нуклеотидтер тізбегін салыстыру. 308 позициядағы қалыпты рестрикциялық сайтпен 335 позицияда пайда болған (335 C>G) генерозиготалы үлгідегі рестрикциялық сайт

Бұл полиморфизм нәтижесінде пайда болған мутация амин қышқылының өзгеруіне алып келетін миссенс мутация екендігі анықталды (Сурет 4).



Сурет 5. MEGA 11 қолдана, 4 үлгінің *IGFBP3* генінің нуклеотидтер тізбегін салыстыру. 509 позициядағы қалыпты рестрикциялық сайт

Секвенирлеу үшін қазақтың құйрықты қылшық жүнді тұқымының болжамды полиморфизм бар деп есептелген 6 үлгі ішінен 2 концентрациясы жоғары үлгілер (*Kaz f-t/c-w AB F/R*, *Kaz f-t/c-w AB F/R 2*) іріктелді және 2 жабайы генотипті үлгілер (*Kaz f-t/c-w AA F/R*, *Kaz f-t/c-w AA F/R 2*) алынды.



Сурет 6. MEGA 11 қолдана, 4 үлгінің *IGFBP3* генінің амин қышқылдарының тізбегін салыстыру. 111 позицияда амин қышқылының ауысуын (111 Ala>Gly) тудырған миссенс мутация

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
481 bits(260)	6e-131	431/526(82%)	34/526(6%)	Plus/Plus
Query 23	TGAGGGGGTGGGGCCACTGGCTGGGTATCCAGAGATCACAGGTCCACATTGACTCAA	82		
Sbjct 44	TGTGGGGTGGGGCCACTGGCTGGGTATCCAGAGATCACAGGTCCACATTGACTCAA	103		
Query 83	GAGCCCAASATACACTCCGGTGGTCTGCTGATGCACCAAGCTG-TGTGACCCCTCCT	141		
Sbjct 104	GAGCCCAAGCAGTTACTCCGGTGGTCTGCTGATGCACCAAGCTG-TGTGACCCCTCCT	162		
Query 142	ACARAAGGTATTTGACCCCACTGTGGMAAAATCCCATGAGATTGAGGTACTGCTC	201		
Sbjct 163	ACAGAAGGATATTGACCCCACTGTGGCAGAGATCCCATGAGATTGAGGTACTGCTC	222		
Query 202	T-CARAACCTCTGCTGGSCAaasakGGTTCTCCAAASTTGGCTCTTTTGTTC-CTT	259		
Sbjct 223	TTTCTAG-ACCTCTGCTGGCAGAGCAGTGTCTCACAAGCTGGCTCTTTTGTTC-CTT	281		
Query 260	GGSCCTCTGAKTGTG-TGGSCCTGTGTGCCCTGTCTCAAKTTCTTGGTGGCC-TGGG	317		
Sbjct 282	GG-CCTCTGAGTGTCTGG-CCTGTGTG-CCCTGTCTCCAGTTCTATGGCTTCCCTGGG	338		
Query 318	GAAATCATGaaranaramaGAGGGTGGTGGSYTGGCATCTGCATTGGRAASGKGACAAC	377		
Sbjct 339	GAA-TCATGAG-AGAGACAGGGGGCTGTGGC-TGGCATCTGCATTGGGAACGGTGACAAC	395		
Query 378	AANTMRRACAAAARATACTCRAGRAS-ACA-GGTCAAGTTCC-TGGK-GTTAKGGGTTTT	433		
Sbjct 396	AATCAGACAAAAGATACTCGAGGAGCAGATGGTCAGTTCCTGGGTGTTATGGGGTTTT	455		
Query 434	ATMAA-CACA-AGT-CC-AG-TAACC-GTGCTTC-TCCC-AGGG-CC-TGC-GC-GG-AA	480		
Sbjct 456	ATCAAAACAGAGTTCCAGGTAAACCCGTGCTCTCCCAAGGGGCCCTGCCGCCGGAA	515		
Query 481	ATGGA-GACACACTGAACGAC-TCAAGT-CTTGAACM-ACCTAGCC	522		
Sbjct 516	ATGGAGGACACTGAACGACCTCAAGTTCTGAACACACTAGCC	561		

Сурет 7. BLAST талдауында GenBank алынған реттіліктер (қол жеткізу нөмірлері KP845448.1) реттіліктер *Kaz f-t/c-w AB F/R* үлгісін салыстыру нәтижелері

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
481 bits(260)	6e-131	431/526(82%)	34/526(6%)	Plus/Plus
Query 23	TGAGGGGGTGGGGCCACTGGCTGGGTATCCAGAGATCACAGGTCCACATTGACTCAA	82		
Sbjct 44	TGTGGGGTGGGGCCACTGGCTGGGTATCCAGAGATCACAGGTCCACATTGACTCAA	103		
Query 83	GAGCCCAASATACACTCCGGTGGTCTGCTGATGCACCAAGCTG-TGTGACCCCTCCT	141		
Sbjct 104	GAGCCCAAGCAGTTACTCCGGTGGTCTGCTGATGCACCAAGCTG-TGTGACCCCTCCT	162		
Query 142	ACARAAGGTATTTGACCCCACTGTGGMAAAATCCCATGAGATTGAGGTACTGCTC	201		
Sbjct 163	ACAGAAGGATATTGACCCCACTGTGGCAGAGATCCCATGAGATTGAGGTACTGCTC	222		
Query 202	T-CARAACCTCTGCTGGSCAaasakGGTTCTCCAAASTTGGCTCTTTTGTTC-CTT	259		
Sbjct 223	TTTCTAG-ACCTCTGCTGGCAGAGCAGTGTCTCACAAGCTGGCTCTTTTGTTC-CTT	281		
Query 260	GGSCCTCTGAKTGTG-TGGSCCTGTGTGCCCTGTCTCAAKTTCTTGGTGGCC-TGGG	317		
Sbjct 282	GG-CCTCTGAGTGTCTGG-CCTGTGTG-CCCTGTCTCCAGTTCTATGGCTTCCCTGGG	338		
Query 318	GAAATCATGaaranaramaGAGGGTGGTGGSYTGGCATCTGCATTGGRAASGKGACAAC	377		
Sbjct 339	GAA-TCATGAG-AGAGACAGGGGGCTGTGGC-TGGCATCTGCATTGGGAACGGTGACAAC	395		
Query 378	AANTMRRACAAAARATACTCRAGRAS-ACA-GGTCAAGTTCC-TGGK-GTTAKGGGTTTT	433		
Sbjct 396	AATCAGACAAAAGATACTCGAGGAGCAGATGGTCAGTTCCTGGGTGTTATGGGGTTTT	455		
Query 434	ATMAA-CACA-AGT-CC-AG-TAACC-GTGCTTC-TCCC-AGGG-CC-TGC-GC-GG-AA	480		
Sbjct 456	ATCAAAACAGAGTTCCAGGTAAACCCGTGCTCTCCCAAGGGGCCCTGCCGCCGGAA	515		
Query 481	ATGGA-GACACACTGAACGAC-TCAAGT-CTTGAACM-ACCTAGCC	522		
Sbjct 516	ATGGAGGACACTGAACGACCTCAAGTTCTGAACACACTAGCC	561		

Сурет 8. BLAST талдауында GenBank алынған реттіліктер (қол жеткізу нөмірлері KP845449.1) реттіліктер *Kaz f-t/c-w AB F/R 2* үлгісін салыстыру нәтижелері

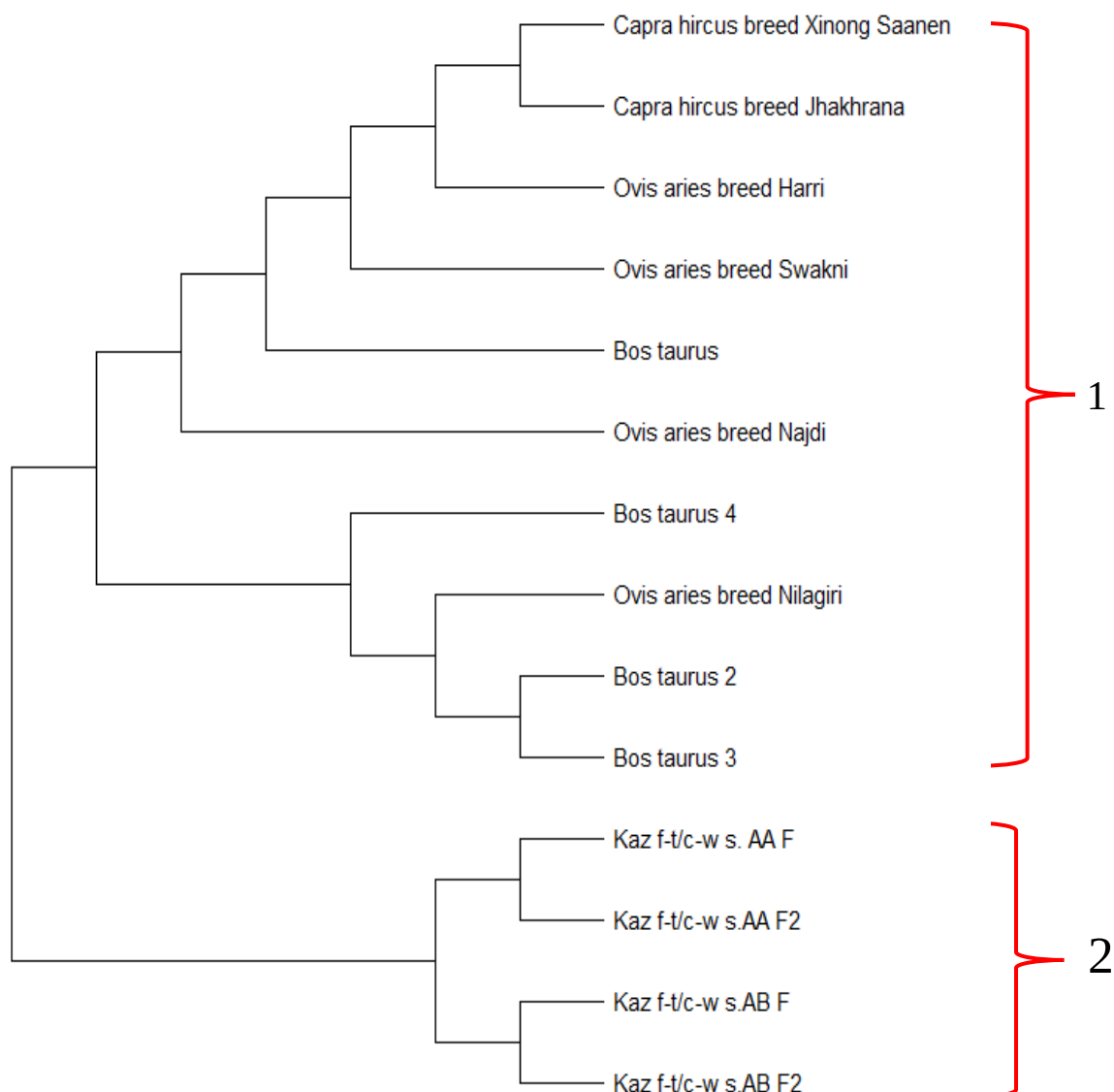
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
481 bits(260)	6e-131	431/526(82%)	34/526(6%)	Plus/Plus
Query 23	TGAGGGGGTGGGGCCACCTGGCTGGGTATCCAGAGATCACAGGCTACCATTTGACTCAA	82		
Sbjct 44	TGTGGGGTGGGGCCACCTGGCTGGGTATCCAGAGATCACAGGCTACCATTTGACTCAA	103		
Query 83	GAGCCCAASATACACTCCGGTGGTCTGCTGATGCACCAAAAGCTG-TGTGACCCCTCTCT	141		
Sbjct 104	GAGCCCAAGCAGTTACTCCGGTGGTCTGCTGATGCACCAA-GCAGCTGTGAGCCCTCTCT	162		
Query 142	ACARAAGGTATATTGACCCACCTGTGGMAAAATCCCATGAGATTCAKGGTACTGCTC	201		
Sbjct 163	ACAGAAGGGATATTGACCCACCTGTGGCAGAGATCCCATGAGAATCAGTGTACTGCTC	222		
Query 202	T-CARAACCTCTGCTGGSCaaasaakGGTTCTCCAAASTTGGCTCTCTTTTGTTC-CTT	259		
Sbjct 223	TTTCAAG-ACCTCTGCTGGGCAGAGCAGTGTCTCACAAGCTGGCTCTCTTTTGTTCACCT	281		
Query 260	GGSCCTCTGAKTGTCT-TGGSCCTGTGTGCCCTCTGTCTMAKTTTWWTGGYTGCC-TGGG	317		
Sbjct 282	GG-CCTCTGAGTGTCTGG-CCTGTGTG-CCTCTGTCTCAGTTCTATGGCTTGGCTGGG	338		
Query 318	GAAATCATGaaranaramaGAGGGTGGTGGSYTGGCATCTGCATTGGRAASGKGACAACT	377		
Sbjct 339	GAA-TCATGAG-AGAGACAGGGGGCTGTGGC-TGGCATCTGCATGGGAACGGTGACAACT	395		
Query 378	AAWTMRACAAAARATACTCRAGRAS-ACA-GGTCAGTTCC-TGGK-GTTAKGGGKTTT	433		
Sbjct 396	AAATCAGACAAAAGATACTCGAGGAGCACATGGTCAGTTCCCTGGGTGTTATGGGGTTT	455		
Query 434	ATMAA-CACA-AGT-CC-AG-TAACC-GTGCTC-TCCC-AGGG-CC-TGC-GC-GG-AA	480		
Sbjct 456	ATCAACACACAGAGTTCCAGGTAACCCGTGCTCTCTCCAGGGGCCCTGCCGCCGGGAA	515		
Query 481	ATGGA-GACACACTGAACGAC-TCAAGT-CTTGAACM-ACTCAGCC	522		
Sbjct 516	ATGGAGGACACACTGAACGACCTCAAGTCTCTGAACACACTCAGCC	561		

Сурет 9. BLAST талдауында GenBank алынған реттіліктер (қол жеткізу нөмірлері **KP845447.1**) реттіліктер *Kaz f-t/c-w AA F/R* үлгісін салыстыру нәтижелері

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
453 bits(245)	1e-122	426/526(81%)	34/526(6%)	Plus/Plus
Query 23	TGAGGGGGTGGGGCCACCTGGCTGGGTATCCAGAGATCACAGGCTACCATTTGACTCAA	82		
Sbjct 45	TGTGGGGTGGGGCCACCTGGCTGGGTATCCAGAGATCACAGGCTACCATTTGACTCAA	104		
Query 83	GAGCCCAASATACACTCCGGTGGTCTGCTGATGCACCAAAAGCTG-TGTGACCCCTCTCT	141		
Sbjct 105	GAGCCCAAGCAGTTACTCCAGTGGTCTGCTGATGCACCAA-GCAGCTGTGAGCCCTCTCT	163		
Query 142	ACARAAGGTATATTGACCCACCTGTGGMAAAATCCCATGAGATTCAKGGTACTGCTC	201		
Sbjct 164	ACAGAAGGGATATTGACCCCTCCCTGTGGCAGAGATCCCATGAGAATCAGTGTACTGCTC	223		
Query 202	T-CARAACCTCTGCTGGSCaaasaakGGTTCTCCAAASTTGGCTCTCTTTTGTTC-CTT	259		
Sbjct 224	TTTCAAG-ACCTCTGCTAGGCAGAGCAGTGTCTCAGAAGCTGGCTCTCTTTTGTTCACCT	282		
Query 260	GGSCCTCTGAKTGTCT-TGGSCCTGTGTGCCCTCTGTCTMAKTTTWWTGGYTGCC-TGGG	317		
Sbjct 283	GG-CCTCTGAGTGTCTGG-CCTGTGTG-CCTCTGTCTCAGTTCTATGGCTTGGCTGGG	339		
Query 318	GAAATCATGaaranaramaGAGGGTGGTGGSYTGGCATCTGCATTGGRAASGKGACAACT	377		
Sbjct 340	GAA-TCATGAG-AGAGACAGGGGGCTGTGGC-TGGCATCTGCATGGGAACGGTGACAACT	396		
Query 378	AAWTMRACAAAARATACTCRAGRAS-ACA-GGTCAGTTCC-TGGK-GTTAKGGGKTTT	433		
Sbjct 397	AAATCAGACAAAAGATACTCGAGGAGCACATGGTCAGTTCCCTGGGTGTTATGGGGTTT	456		
Query 434	ATMAA-CACA-AGT-CC-AG-TAACC-GTGCTC-TCCC-AGGG-CC-TGC-GC-GG-AA	480		
Sbjct 457	ATCAGACACAGAGTTCCAGGTAACCCGTGCTCTCTCCAGGGGCCCTGCCGCCGGGAA	516		
Query 481	ATGGA-GACACACTGAACGAC-TCAAGT-CTTGAACM-ACTCAGCC	522		
Sbjct 517	ATGGAGGACACACTGAACGACCTCAAGTCTCTGAACACACTCAGCC	562		

Сурет 10. BLAST талдауында GenBank алынған реттіліктер (қол жеткізу нөмірлері **JX292096.1**) реттіліктер *Kaz f-t/c-w AA F/R 2* үлгісін салыстыру нәтижелері

IGFBP3 генінің секвенирлеу нәтижесінде алынған мәліметтерді пайдалана отырып GenBank, NCBI Blast (қол жеткізу нөмірлері: KP845448.1, KP845449.1, KP845447.1, AY526114.1, NM462257.1, AY306011.1, U83465.1, JQ711181.1, KF899893.1, MT708539.1) бағдарламалары арқылы қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымына жасалған филогенетикалық кластер. Филогенетикалық ағаш MEGA 11 бағдарламасының көмегімен Neighbor - Joining әдісі арқылы құрастырылды (Сурет 11).



Сурет 11. *Neighbor - Joining* әдісімен құрастырылған филогенетикалық ағаш сызбанұсқасы

Филогенетикалық ағаш қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымының *IGFBP3* генінің басқа қой тұқымдарымен және популяциялармен салыстырғанда жақын туыстық қатынасын көрсетті.

Зерттеу барысында *IGFBP3* генінің полиморфизмдері талданды. *IGFBP3* гені *IGFBP* (Инсулинге ұқсас өсу факторын байланыстыратын ақуыз) тобына жатады және оның негізі рөлі организмнің бұлшықет, тері және сүйек ұлпаларының өсуі, метаболизмі, клеткалардың дифференсациясы мен пролиферациясына жауап беретін *IGF* ақуыздарының белсенділігін реттеу болып табылады. *IGFBP3* ақуызы *IGF1* және *IGF2* байланыса отырып олардың қан плазмасында жеткілікті деңгейде болуын қамтамасыз етеді, бұл өз кезегінде өсу процестерін үйлестіреді.

Зерттеуде *IGFBP3* генінің полиморфизмін анықтау үшін ПТР және РФҰП әдістері қолданылды. РФҰП талдау нәтижесінде *HaeIII* рестриктаза ферментімен өңдеу кезінде AA және AB генотиптері үшін әртүрлі фрагменттер алынды. AA генотипі үшін 201, 87, 67, 56, 19, 16 және 8 ж.н фрагменттері анықталды. Ал AB генотипі үшін 201, 174, 87, 67, 56, 19, 16 және 8 ж.н фрагменттері алынды, бұл болжамды гетерозиготалы генотиптің болуын растады. Бұл нәтижелер қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымында *IGFBP3* генінің полиморфизмі бар екенін көрсетті.

Жалпы, *IGFBP3* генінің полиморфизмдері мүйізді ірі қара малдарында кеңінен зерттелген, ал қой тұқымдарында бұл геннің зерттелуі әлі де шектеулі. Сондықтан алдағы уақытта қойлардағы *IGFBP3* генінің полиморфизмін және мутацияларды анықтау үшін тереңірек зерттеулер жүргізу қажет.

Қорытынды

Қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымында *IGFBP3* генінің полиморфизмін зерттеу үшін жүргізілген РФҰП және Сэнгер бойынша секвенирлеу әдістерінің нәтижелері тұқымның ет және жүн өнімділігіне әсер ететін генетикалық маркерлерді анықтауға мүмкіндік берді. Қойдың перифериялық қаны мен геномдық ДНҚ алынған 380 үлгі арқылы сандық және сапалық талдаулар жүргізілді. Спектрофотометрия мен агарозды геледе электрофорез арқылы алынған ДНҚ жоғары сапалы және толықтай зерттеуге жарамды болды. *IGFBP3* генінің полиморфизмін анықтау үшін ПТР және *Hae III* рестриктаза ферментімен өңдеу жұмыстары жүргізіліп, 6 болжамды полиморфизм анықталды, олардың секвенсі жасалды. Секвенирлеу нәтижесінде *IGFBP3* генінің 335 позициясында C>G ауысуы анықталды, бұл өз кезегінде 111 Ala>Gly амин қышқылының ауысуын туындатқан миссенс мутациясына әкеледі. Бұл мутациялар генетикалық ерекшеліктер мен өнімділік қасиеттеріне әсер етуі мүмкін. Қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымының секвенс деректерін NCBI базасындағы басқа қой тұқымдарының секвенсімен салыстыру арқылы филогенетикалық талдау жүргізілді. Филогенетикалық ағашты талдау нәтижесінде екі кластер анықталды, бұл тұқым арасындағы туыстық байланысты көрсетеді. Алынған нәтижелер бойынша, болжамды гетерозиготалы генотиптің SNP дәлелденді. Бұл зерттеу қазақтың құйрықты қылшық жүнді қой тұқымының селекциялық жұмыстарында *IGFBP3* генін пайдалану мүмкіндігін көрсетеді. Селекциялық жұмыстарда осы геннің полиморфизмдерін ескере отырып, өнімділікті арттыруға бағытталған стратегияларды енгізу ұсынылады.

Қаржыландыру. Бұл зерттеу жұмысы 2023-2025 жылдарға арналған ғылыми, ғылыми-техникалық бағдарламалар бойынша бағдарламалық-нысаналы қаржыландыруға арналған конкурс негізінде BR21882201 «Улучшение мясной продуктивности курдючных овец новыми методами селекции, генетики и биотехнологии» атты бағадаралама аясында жүзеге асырылды.

Әдебиеттер тізімі

1. Zhang, Y., et al. (2020). *IGFBP3* gene polymorphism and its association with growth traits in sheep. *Journal of Animal Science*, 50, 1650–1656. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa123>
2. Исламов, Е., Гульжан, К., Кулатаев, Б., & Мухаметжарова, И. . (2023). Шу-іле аласа таулары мен мойынкүм құмдарының шөл жағдайында өсірілетін оңтүстік қазақ мериносының көбею және өнімділік қасиеттерін жақсартудың генетикалық негіздері. *Izdenister Natigeler*, (2 (98), 5–13. <https://doi.org/10.37884/2-2023/01>
3. Li, Q., et al. (2021). Genetic variations in *IGFBP3* gene and their effects on growth traits of sheep. *Veterinary Research Communications*, 45, 215–225. <https://doi.org/10.1007/s11259-021-09812-6>
4. Ahmed, M. R., et al. (2022). Structure and function of *IGFBP3* in regulating growth in livestock species. *Molecular Biology Reports*, 28(4), 1349-1357.
5. Sarat, K., et al. (2023). *IGFBP3* post-translational modifications and their impact on cell signaling pathways in sheep. *Gene Expression Regulation*, 37, 319-326.
6. Аманжолов, А.А., и др. (2021). Влияние *IGFBP3* генетического полиморфизма на продуктивность овец. *Вестник сельскохозяйственных наук Казахстана*, 12, 44-49.
7. Zhang, F., et al. (2022). Mechanisms of *IGFBP3* protein in cell signaling and apoptosis. *Journal of Cell Science*, 39, 423-431.
8. Ali, S., et al. (2023). Association of *IGFBP3* polymorphisms with growth and meat quality traits in sheep. *Animal Genetics*, 54(6), 871-880. <https://doi.org/10.1111/age.13306>
9. Lukashova, I. V., et al. (2023). *IGFBP3* gene polymorphisms and their effect on wool and meat production in sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 72(1), 10-20. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.05.018>

10. Firth, S. M., & Baxter, R. C. (2002). Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. *Endocrine Reviews*, **23**(6), 824–854. <https://doi.org/10.1210/er.2001-0033>
11. Waters, M. J. (2016). The growth hormone receptor. *Growth Hormone & IGF Research*, **28**, 6–10. <https://doi.org/10.1016/j.ghir.2015.10.00>
12. Ge, W., Davis, M. E., Hines, H. C., Irvin, K. M., & Simmen, R. C. (2003). Association of genetic markers with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. *Journal of Animal Science*, **81**(8), 2139–2144. <https://doi.org/10.2527/2003.8182139x>
13. Thomas, M. G., Enns, R. M., & Shirley, K. L. (2007). Genetic markers associated with beef cattle growth, carcass, and reproductive traits. *The Professional Animal Scientist*, **23**(5), 361–373. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31017-3](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31017-3)
14. Zhao, X., Mo, D., Li, A., Gong, W., Xiao, S., Zhang, Y., & He, J. (2011). Comparative analysis of microRNA profiles between adult and neonatal porcine macrophages. *International Journal of Molecular Sciences*, **12**(12), 9082–9094. <https://doi.org/10.3390/ijms12129082>

References

1. Zhang Y., et al. IGFBP3 gene polymorphism and its association with growth traits in sheep // *Journal of Animal Science*. – 2020. – Vol. 50. – P. 1650–1656. – DOI: 10.1093/jas/skaa123.
2. Islamov E., Gulzhan K., Kulataev B., Mukhametzharova I. Genetic basis for improving reproductive and productive traits of South Kazakh Merino in the desert conditions of Shy-Ile low mountains and Moiynkum sands // *Izdenister Natigeler Issledovaniya i rezultaty*. – 2023. – No. 2(98). – P. 5–13. – DOI: 10.37884/2-2023/01.
3. Li Q., et al. Genetic variations in IGFBP3 gene and their effects on growth traits of sheep // *Veterinary Research Communications*. – 2021. – Vol. 45. – P. 215–225. – DOI: 10.1007/s11259-021-09812-6.
4. Ahmed M.R., et al. Structure and function of IGFBP3 in regulating growth in livestock species // *Molecular Biology Reports*. – 2022. – Vol. 28(4). – P. 1349–1357.
5. Sarat K., et al. IGFBP3 post-translational modifications and their impact on cell signaling pathways in sheep // *Gene Expression Regulation*. – 2023. – Vol. 37. – P. 319–326.
6. Amanzholov A.A., i dr. Vliyanie IGFBP3 geneticheskogo polimorfizma na produktivnost' ovets // *Vestnik sel'skokhozyaystvennykh nauk Kazakhstana*. – 2021. – No. 12. – S. 44–49.
7. Zhang F., et al. Mechanisms of IGFBP3 protein in cell signaling and apoptosis // *Journal of Cell Science*. – 2022. – Vol. 39. – P. 423–431.
8. Ali S., et al. Association of IGFBP3 polymorphisms with growth and meat quality traits in sheep // *Animal Genetics*. – 2023. – Vol. 54(6). – P. 871–880. – DOI: 10.1111/age.13306.
9. Lukashova I.V., et al. IGFBP3 gene polymorphisms and their effect on wool and meat production in sheep breeds // *Small Ruminant Research*. – 2005. – Vol. 72(1). – P. 10–20. – DOI: 10.1016/j.smallrumres.2005.05.018.
10. Firth S.M., Baxter R.C. Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins // *Endocrine Reviews*. – 2002. – Vol. 23(6). – P. 824–854. – DOI: 10.1210/er.2001-0033.
11. Waters M.J. The growth hormone receptor // *Growth Hormone & IGF Research*. – 2016. – Vol. 28. – P. 6–10. – DOI: 10.1016/j.ghir.2015.10.00.
12. Ge W., Davis M.E., Hines H.C., Irvin K.M., Simmen R.C. Association of genetic markers with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle // *Journal of Animal Science*. – 2003. – Vol. 81(8). – P. 2139–2144. – DOI: 10.2527/2003.8182139x.
13. Thomas M.G., Enns R.M., Shirley K.L. Genetic markers associated with beef cattle growth, carcass, and reproductive traits // *The Professional Animal Scientist*. – 2007. – Vol. 23(5). – P. 361–373. – DOI: 10.15232/S1080-7446(15)31017-3.
14. Zhao X., et al. Comparative analysis of microRNA profiles between adult and neonatal porcine macrophages // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2011. – Vol. 12(12). – P. 9082–9094. – DOI: 10.3390/ijms12129082.

**Ермекова М.Ш^{1,2}, Бектасов З.Б^{1,2}, Қожахмет А.Т^{1,2},
Амзеев Р.Е³, Досыбаев К.Ж^{1,2}, Қапасұлы Т^{1,2}**

¹ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства», г. Алматы, Казахстан, nurii_90@mail.ru, bekhtasov2004@mail.ru, tilek.kapas@mail.ru, kairat1987_11@mail.ru, altynaitg@gmail.com, makpal_30.01@mail.ru

²Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан, nurii_90@mail.ru, bekhtasov2004@mail.ru, altynaitg@gmail.com, kairat1987_11@mail.ru,

⁴Казахский национальный педагогический университет имени Абая, г. Алматы, Казахстан, rauanbiolog@mail.com

ВЫЯВЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА IGFBP3 И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КАЗАХСКОЙ КУРДЮЧНОЙ ГРУБОШЁРСТНОЙ ПОРОДЫ ОВЕЦ

Аннотация

Данное исследование направлено на изучение полиморфизма гена IGFBP3 у казахской грубошерстной овцы. В исследовании использовались методы РСЦ и секвенирования Сэнгера. Из 380 образцов крови овец была выделена геномная ДНК, качество и концентрация которой были определены с помощью спектрофотометрии и горизонтального электрофореза в агарозном геле. Для определения полиморфизмов гена IGFBP3 проведены ПЦР и обработка рестриктазой Hae III, в результате чего был выявлен 6 предполагаемых полиморфизмов. В результате секвенирования была обнаружена замена C>G на 335 позиции и миссенс-мутация, вызванная заменой аминокислот 111 Ala>Gly. На основе полученных данных был проведен филогенетический анализ казахской грубошерстной овцы с другими овечими популяциями, доступными в базе данных NCBI. Филогенетическое дерево состояло из двух кластеров. Данное исследование, используя полиморфизмы гена IGFBP3, позволяет улучшить селекционные работы в овцеводстве.

Результаты данного исследования впервые научно подтвердили наличие генетических маркеров, потенциально влияющих на продуктивность казахской курдючной грубошерстной породы овец. Обнаруженная миссенс-мутация в гене **IGFBP3** открывает новые возможности для отбора экономически ценных признаков в селекционной практике. Филогенетический анализ полученных последовательностей позволил выявить генетическое разнообразие и родственные связи между породами. Полученные данные имеют важное значение для эффективного использования генетических ресурсов и сохранения адаптивных свойств местных овечьих пород. Верификация результатов путем сопоставления с международными научными базами подтверждает их надежность и высокую прикладную значимость.

Ключевые слова: ген IGFBP3, полиморфизм, ПЦР, метод Сэнгера, секвенирование, гетерозиготный генотип, филогенетический анализ, казахская грубошерстная овца, генетические маркеры, овечья порода.

**Yermekova M.Sh^{2 3}, Bektassov Z.B^{1 2}, Kozhakhmet A.T^{1 2}, Amzeyev R.E⁴,
Dossybayev K.Zh^{1 2}, Kapasuly T^{1 2}.**

¹ Kazakh Research Institute of Livestock and Foraging» LLP, Almaty, Kazakhstan
nurii_90@mail.ru, bekhtasov2004@mail.ru, tilek.kapas@mail.ru, kairat1987_11@mail.ru,
altynaitg@gmail.com, makpal_30.01@mail.ru

² Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan, nurii_90@mail.ru,
bekhtasov2004@mail.ru, altynaitg@gmail.com, kairat1987_11@mail.ru,

³ Abai Kazakh National Pedagogical University, Almaty, Kazakhstan, rauanbiolog@mail.com

DETECTION OF IGFBP3 GENE POLYMORPHISM AND PHYLOGENETIC ANALYSIS IN KAZAKH FAT-TAILED COARSE-WOOL SHEEP BREED

Abstract

This study aims to investigate the polymorphism of the IGFBP3 gene in the Kazakh coarse wool sheep breed. PCR-RFLP and Sanger sequencing methods were applied in the research. Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples of 380 sheep, and its quality and concentration were determined by spectrophotometry and agarose gel electrophoresis. PCR and Hae III restriction

enzyme treatment were used to identify the polymorphisms of the IGFBP3 gene, resulting in the identification of 6 potential polymorphisms. Sanger sequencing revealed a C>G substitution at position 335 and a missense mutation caused by the Ala>Gly amino acid substitution at position 111. Based on the obtained data, phylogenetic analysis of the Kazakh coarse wool sheep was performed with other sheep breeds available in the NCBI database. The phylogenetic tree consisted of two clusters. This study, utilizing IGFBP3 gene polymorphisms, contributes to improving breeding programs in sheep farming.

The results of this study scientifically confirmed, for the first time, the presence of genetic markers potentially influencing productivity in the Kazakh fat-tailed coarse-wool sheep breed. The identified missense mutation in the **IGFBP3** gene provides new opportunities for selecting economically valuable traits in breeding programs. Phylogenetic analysis of the obtained sequences revealed genetic diversity and relationships among sheep breeds. These findings are crucial for the effective utilization of genetic resources and the preservation of adaptive traits of local sheep populations. Verification of the results through comparison with international scientific databases ensures their reliability and high applied significance.

Key words: *IGFBP3* gene, polymorphism, PCR, Sanger method, sequencing, heterozygous genotype, phylogenetic analysis, Kazakh coarse wool sheep, genetic markers, sheep breed.

Вклад авторов:

ЕМ, Б.З. и Д.К. разработали концепцию исследования, определили его научное направление и структуру, оформили теоретико-методологические основы и провели всесторонний анализ собранных материалов.

К.Т. и К.А. осуществили комплексную обработку полученных данных, выполнили детальный статистический анализ и интерпретацию результатов, обеспечив достоверность и объективность выводов.

А.Р. принял непосредственное участие в проведении практических и экспериментальных исследований.

А.М. и Д.К. провели углублённый биоинформатический анализ и последующую обработку экспериментальных данных.

Все авторы принимали участие в обсуждении результатов, внесли значительные правки в текст рукописи, прочитали и единогласно одобрили её окончательную версию перед подачей к публикации.