

Utegenova M.E. Myktybayeva R.Zh.

BACTERIOCYNOGENIC ACTIVITY OTHER UROBACTERIES

Abstract

Bacteriocynogenic activity other urobacteries can synthesized vitamins, amino acids, ferments and other biological activity products, otherwise urobacteries can produce bacteriocynes. Urobacteries activity in non spora bacteria biggest than spora produce bacteria. Bacteriocynes can reach in strains. Spora able and spora disable bacteria can coordinate bacteriocynogenic activity.

Key words: Urobacteria, vitamins, ferments, bacteriocynogenic, antibacterium.

УДК 636.082.11:575.243

Хакяр Д.М., Рахманов С.С.

Казахский национальный аграрный университет

ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕЛОФОНДА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ ДНК ЧЕРНО-ПЁСТРОЙ ПОРОДЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ЮГО-ВОСТОКА КАЗАХСТАНА

Аннотация

Выявлен генетический полиморфизм крупного рогатого скота чёрно-пестрой породы, рассчитана частота встречаемости аллелей и уровень гетерозиготности по каждому локусу. Полученные данные необходимы для оценки генетической структуры стада и породы в целом.

Ключевые слова : полиморфизм, ДНК-анализ, праймеры, крупный рогатый скот, база данных.

Введение

На сегодняшний день единственным эффективным способом контроля достоверности происхождения и идентификации крупного рогатого скота является генетическое тестирование, основанное на использовании явления генетического полиморфизма.

Современная технология типирования крупного рогатого скота по ДНК-маркером основана на методе анализа полиморфизма длины амплифицированных фрагментов (ПДАФ-анализ) и базируется на использовании фирменного лабораторного оборудования и специфического набора праймеров для типирования ДНК [1,2].

Актуальными в скотоводстве на сегодняшний день являются вопросы: изучение генетических особенностей породы, их филогенеза и пороодообразования, сходства и различия, выявление генетических аномалий у животных, их происхождения, выявить особенности генетического разнообразия популяций.

Генетические маркеры позволяют судить о степени гетерозиготности животных, степени консолидации наследственных качеств пород, типов, линий, о генетических различиях между ними. В характеристике аллелофонда пород и популяций сельскохозяйственных животных находят применение генетические маркеры разных типов.

В развитых странах метод ПЦР используется как в медицине, так и в сельском хозяйстве. В нашей республике метод ПЦР применяется в медицинских учреждениях, а в животноводстве, в частности в скотоводстве применяется ограниченно [3].

Контролирование генетических показателей у животных необходимо для реализации генетического потенциала и получение здорового потомства.

Материалы и методы

Научные исследования проводили в лаборатории «Генетики сельскохозяйственных животных» ТОО-КазНИИЖиК. С целью накопления данных о генетической структуре популяции КРС черно-пестрой породы было генотипировано 80 голов по 11 микросателлитным ДНК. Биологические материалы (волосыные луковицы) были привезены из базовых хозяйств. Для выделения ДНК был использован набор PureLink™ Genomic DNA Kits (Corporate Headquarters: Invitrogen by life technologies, USA). Анализ ДНК и постановку ПЦР выполняли согласно существующим рекомендациям.

Идентификация происхождения 80 голов крупного рогатого скота чёрно-пестрой породы проводили в несколько этапов. На первом этапе исследования осуществляли выделение из исследуемых объектов геномной ДНК, ее очистку, определение концентрации и хранение. На втором этапе – постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР) и третья – фрагментный анализ продуктов амплификации ДНК.

Выделение ДНК из биологических образцов волосыные луковицы проводили с использованием набора реактивов фирмы «Nexttec» (Германия) и набора реагентов *Diatom™ DNA Prep 100* (ООО «Лаборатория Изоген», Россия). Исследование микросателлитов выполняли на ДНК-анализаторе ABI 310 («Applied Biosystems», США) по методикам Центра биотехнологии и молекулярной диагностики Всероссийского НИИ животноводства. Статистическую обработку данных осуществляли по стандартным биометрическими методиками с использованием программного комплекса [4].

Качественную оценку выделенной ДНК определяли спектрометрическим способом в диапазонах 260, 280 и 320 нм.

Синтез (амплификация) полиморфных участков выделенной ДНК. Синтез полиморфных участков образцов исследуемой ДНК выполняли с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Реакция амплификации проводилась с использованием готового набора реактивов StockMarks Bovine Kit («Applied Biosystems», США) в мультилокусном формате по 11 локусам.

Фрагментный анализ проводили капиллярным электрофорезом на генетическом синтезаторе по специфичным локусам, используемым для генотипирования крупного рогатого скота, которые приведены в таблицы 1.

Таблица 1 - Специфичные локусы для генотипирования крупного рогатого скота

Названия локуса	Тип красителя	Цвет красителя	Длина, п.н.
TGLA 227	FAM	Синий	64-115
BM2113	FAM	Синий	116-146
TGLA53	FAM	Синий	147-197
ETH 10	FAM	Синий	198-234
SPS 115	FAM	Синий	235-265
TGLA126	JOE	зеленый	104-131
TGLA 122	JOE	зеленый	134-193
INRA 23	JOE	зеленый	193-235

ETH3	NED	желтый	90-135
ETH225	NED	желтый	136-165
BM1824	NED	желтый	170-218

ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик, ДНК Технология» (Россия) с использованием набора GenePak PCR Core (IsoGene, Москва). Реакцию выполняли в следующем режиме: начальная денатурация-2 мин. при 94 °С; 30 циклов: 30 с при 94 °С, 30 с при 55 °С, 2 мин. при 72 °С ; терминальная элонгация-10 мин. при 72 °С ; охлаждение до 4 °С. Продукты амплификации разделяли методом капиллярного электрофореза на ДНК анализаторе ABI 310.

Данные об аллелях каждого животного суммировали в электронной таблице Microsoft Excel. Полученная таким образом матрица генотипов служила основной для статистической обработки результатов.

Результаты и обсуждения

Полученные данные свидетельствуют о существенных распределениях повторов в геноме крупного рогатого скота черно-пестрой породы. Так, в исследованной группе крупного рогатого скота черно-пестрой породы присутствовали 10 «эталонных» быка. Полученные у этих животных спектры ампликонов с праймером существенно отличались от выявленных у коров по присутствию шести локусов, по которым наблюдали различия.

Полученные спектры быков не выносят таких существенных изменений в общий спектр и отличаются от спектра коров по одному локусу-наличием ампликона длиной 2500 п.о.

Проведенные исследования изучаемой выборки крупного рогатого скота выявили наличие 176 аллелей в 11 локусов микросателлитов, что в среднем на локус составило 7,82 для черно-пестрой породы (Таблица.2)

В микросателлитных локусах у изучаемых типов скота идентифицировали соответственно 11 частных аллелей. Число эффективных аллелей (они вносят наибольший вклад в расчет степени гетерозиготности) было выше в локусах микросателлитов, что указывает на более равномерное распределение аллелей микросателлитов в популяции. Как следует из данных особенность породы в локусе ETH10 аллель 113 встречается с частотой $0,6071 \pm 0,0533$, в локусе BM1824 аллель 178 встречается с частотой $0,6898 \pm 0,0336$, в локусе SPS115 аллель 248 с частотой $0,7738 \pm 0,0456$.

Учитывая, что полученные нами результаты согласуются с закономерностями классической генетики и разведения сельскохозяйственных животных, постулирующими, что использование гомогенного подбора направлено на закрепление признаков продуктивности родителей в потомстве, можно сделать вывод, что микросателлитные профили могут использоваться в качестве критериев оценки степени гетерогенности подбора родительских пар при чистопородном разведении.

Необходимо отметить, что выявленные закономерности следует с осторожностью распространять на КРС других пород, типов или даже стад. Приведенные в настоящей работе данные хотя и являются научно обоснованными и экспериментально доказанными, требуются их подтверждение в рамках более масштабных исследований как в породном, так и в популяционном аспекте.

Нами были созданы базы данных для хранения и обработки полной информации об исследованных популяциях крупного рогатого скота. Созданные базы и расчетные модули объединены в общую систему. Функционально система состоит из модуля хранения исходных данных, расчетного модуля (расчет частоты аллелей, гетерезиготности, уровни полиморфизма, генетического расстояния по Нею, расчет инбридинга) и модуля моделирования (расчеты коэффициентов корреляции) (по Пирсону, по Спирману и др.),

моделирования популяционной структуры методом Монте-Карло(методы бутстрэп и джекнайф). Были разработаны и реализованы требования к аппаратному и программному обеспечению системы.

Таблица 2 – Полиморфизм микросателлитных локусов крупного рогатого скота чернопестрой породы

Локус	Длина п.н	Кол-во	Частота	Дов. интервал	Локус	Длина п.н	Кол-во	Частота	Дов. интервал
BM 1824	121	1	0,0119	0,0118	ETH 10	113	51	0,6071	0,0533
	123	19	0,2262	0,0456		115	6	0,0714	0,0281
	125	3	0,0357	0,0202		117	1	0,0119	0,0118
	129	11	0,131	0,0368		117	1	0,0119	0,0118
	131	23	0,2738	0,0487		121	3	0,0357	0,0202
	133	18	0,2143	0,0448		123	4	0,0476	0,0232
	135	7	0,0833	0,0302		125	9	0,1071	0,0337
	141	2	0,0238	0,0166		127	9	0,1071	0,0337
	гетерозиготность 0,8115					гетерозиготность 0,6067			
	INRA 23	200	2	0,0238		0,0166	SPS 115	246	6
202		4	0,0476	0,0232	248	65		0,7738	0,0456
206		22	0,2619	0,048	250	2		0,0238	0,0166
206		7	0,0833	0,0302	252	7		0,0833	0,0302
208		6	0,0714	0,0281	254	1		0,0119	0,0118
210		30	0,3571	0,0523	256	3		0,0357	0,0202
212		1	0,0119	0,0118					
214		12	0,1429	0,0382					
гетерозиготность 0.7777				гетерозиготность 0,3919					

Рисунок 1 - Модуль ввода исходных данных

Сейчас идет дальнейшее усовершенствование созданной системы и добавление модулей. В базу данных внесены все данные исследованных популяций крупного рогатого скота. На рис.1 приведены фрагменты созданной системы.

Выводы

Результаты проведенных исследований показали возможность применения разработанной нами тест-системы на основе микросателлитов для определения породной принадлежности КРС.

Для получения более полных данных о состоянии и структуре популяций следует использовать различные типы генетических маркеров.

Таким образом проведенный молекулярно-генетический анализ показал, что популяция крупного рогатого скота черно-пестрой породы имеет подразделенность по генетическому параметру. Полученные данные могут быть использованы при разработке мероприятий по сохранению их уникальных генофондов, хорошо адаптированных к местным условиям.

Создание единой системы и базы данных по сбору, хранению и обработке генетически контролируемых признаков дает возможность их применения при контроле происхождения племенных животных, маркировании линий, подборе гетерозисных сочетаний при спаривании.

Литература

- 1 Батырханов М.С., Тореханов А.А., Бурабаев А.А., Медетова А.К. Методы проведения ПЦР-амплификации. Алматы, 2006 С. 14-15
 - 2 Глазко В.И., Столбовский Ю.А., Глазко Т.Т., Феофилов А.В. Структурно-функциональные особенности микросателлитов в геномах крупного рогатого скота и овец // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук, 2011, №1, - С. 41- 45
 - 3 Мусабаев Б.И. , Жансеркенова О.О., Ветринская А.А. , Нуртлеуова С.С. Микросателлиты локусов бойынша алатау тукумынын ДНК полиморфизмин анықтау // Жары , 2010 , № 2 , - Б.40-43.
 - 4 Нурбаев С.Д. Элементарная биометрия (основы, концепции, методы), том 1, Учебник для ВУЗов. Германия: Palmarium academic publishing, 2013 г. - 207 с.
- 5

Хакяр Д.М., Рахманов С.С.

ОҢТҮСТІК ШЫҒЫС ҚАЗАҚСТАН АЙМАҒЫНДАҒЫ ҚАРА-АЛА ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ АЛЛЕЛОФОНДА ЕРЕКШЕЛІГІН ДНҚ МИКРОСАТЕЛЛИТ АРҚЫЛЫ АНЫҚТАУ

Аңдатпа

Қара-ала ірі малдың генетикалық полиморфизмі анықталды, әрбір локус бойынша аллель жиілігі және гетерозигот деңгейі есептелді. жалпы олардың құрылымын және генетикалық жыныстарын бағалау үшін деректер алынды.

Кілт сөздер : полиморфизм, ДНҚ талдау, праймер, ірі-қара мал, мәліметтер базасы.

Haqyar D.M., Rakhmanov S.S.

THE ALLELE POOL FEATURES ON DNA MICROSATELLITES OF THE BLACK AND
MOTLEY CATTLE BREED IN SOUTH EAST KAZAKHSTAN

Abstract

It describe the black and white freeze cattle breed genetically polymorphism, calculated frequency of alleles and the heterozygosis level for each locus. Generally receiving data required to evaluate the flock structure and genetic rocks.

Keywords: polymorphism, DNA-Analysis primers, cattle, database.

УДК 619:616.578.832.1

Шалгынбаев Э.К., Ильгекбаева Г.Д., Орынбаев М.Б.

Казахский национальный аграрный университет, г. Алматы

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»

КН МОН РК, Жамбылская обл., Кордайский р-н, пгт Гвардейский

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ВИРУСА ЧУМЫ МЕЛКИХ
ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Аннотация

В работе представлены результаты исследований по выделению вируса ЧМЖЖ на культуре клеток и изучению культуральных свойств выделенного вируса. В результате проведенных исследований выделен эпизоотологически актуальный изолят «ZHUALY KZ 2014» вируса ЧМЖЖ. Установлено, что наиболее приемлемой системой для культивирования изолята «ZHUALY KZ 2014» вируса ЧМЖЖ является первично-трипсинизированная культура клеток ПЯ. Определены оптимальные условия культивирования выделенного вируса.

Ключевые слова: Вирус, чума мелких жвачных животных, изолят, культура клеток, почки ягненка.

Введение

Чума мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) (Peste des petits ruminants) – высококонтагиозная, остро или подостро протекающая вирусная болезнь овец и коз, характеризующаяся лихорадкой, язвенными поражениями слизистой оболочки ротовой полости, геморрагическим гастроэнтеритом, поражением лимфоидной системы и развитием пневмонии [1].

ЧМЖЖ относится к числу опасных заболеваний в последние годы нанося большой экономический ущерб животноводству стран СНГ и в том числе Республики Казахстан [2,3,4]. В системе мер борьбы с ЧМЖЖ в неблагополучных странах ключевая роль отводится вакцинации [4].

Для получения диагностических и профилактических препаратов большое значение имеет вирусосодержащее сырье с высокой биологической активностью.