

АНДАТПА

«6D070100 – Биотехнология» мамандығы бойынша философия докторы (Ph.D) ғылыми дәрежесін алу үшін жазылған

МУСРАЛИНА ЛЯЗЗАТ ЗЕНУРАИНОВНА

Қазақстан аумағындағы археологиялық қазбаларынан табылған патогенді микроағзалардың палеогенетикалық талдауы

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс палеогенетика саласына жатады және Орталық-Еуразия дала аумағынан табылған археологиялық олжаларды бейнелейтін адам сүйек материалындағы ежелгі патогендік ағзаларды талдауға арналған. Жұмыста палео-ДНҚ бөліп алу, кітапханаларды дайындау, палео-ДНҚ толық геномдық секвенирлеуі (360 ежелгі нысандар), патогендік микроағзалардың кең ауқымы мен кейбір ДНҚ вирустардан ДНҚ табылып, биоинформатикалық скрининг туралы мәліметтер және қазіргі Қазақстан, Ресей және Қырғызстан территориясынан ежелгі геномдарды қайта құрудың биотехнологиялық тәсілдерін қолдана отырып, олардың көшірме саны мен көнелігін бағалау ұсынылған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Соңғы жылдары ежелгі ДНҚ талдауының жаңа әдістермен, биоинформатикалық талдаудың заманауи мәліметтерді жинақтау есебінен палеогенетиканың мүмкіндіктері айтарлықтай кеңейді. Ежелгі ДНҚ-ның ыдырауы мен химиялық модификациясы негізінде ежелгі және қазіргі ДНҚ арасындағы айырмашылықтарды анықтауға ғана емес, сонымен қатар ежелгі геномдарды сәтті реконструкциялауға мүмкіндік беретін талдаудың биотехнологиялық әдістерінің дамуы нақты бағдарламалық пакеттерді құруға негіз болды, ал қазір онсыз ежелгі геномдарды талдау іс жүзінде мүмкін емес. Дегенмен, ежелгі ДНҚ талдауының күрделілігіне байланысты әлем бойынша палео-ДНҚ зертханаларының саны әлі де өте шектеулі екенін, олардың арасында ежелгі ауру қоздырғыштарымен жұмыс істейтін зертханалар өте аз екенін атап өткен жөн. Ежелгі патогендерді талдау ежелгі сүйек материалында анықталған агент ластану нәтижесі емес екеніне сенімділікті талап етеді. Оң нәтижені тексеру бірнеше талдау әдістерімен растауды талап етеді.

Тарихи аспектіден басқа, ежелгі патогенді зерттеулер қазіргі заманғы медицина тұрғысынан өзекті. Өртүрлі географиялық орындардан және уақыт кезеңдерінен қауіпті вирустар мен бактериялардың адам штаммдарының филогенетикалық талданып, инфекциялардың таралуын білу мүмкін.

Бұл жұмыс Орталық Еуразия кеңістігінен, оның ішінде қазіргі Қазақстан аумағынан алынған археологиялық материалдардың ежелгі қоздырғыштарын тарихы контекстінде іс жүзінде зерттелмегендігімен өзекті болып табылады.

Зерттеудің мақсаты. Бұл жұмыстың мақсаты Орталық Еуразия аймағының қорымдарынан адам қалдықтарының ДНҚ-сынан патогенді

микроағзалар мен вирустардың ежелгі штаммдарын анықтау бойынша палеогенетикалық талдау жасау болды.

Зерттеудің міндеттері

1. Орталық Еуразия аймағы тарихының ерте кезеңдеріндегі археологиялық олжаларға талдау жасау және адамдардың сүйек қалдықтарын бейнелейтін зерттеу материалдарын жинақтау.

2. Палео-ДНҚ үлгілерін бөлу және талдау. ДНҚ кітапханаларын дайындап, толық геномды секвенирлеуді жүргізу.

3. Белгілі адам патогендері үшін NGS деректерінің биоинформатикалық скринингі.

4. Маңызды патогенді ағзаларға қатысты биоинформатикалық скрининг нәтижелерін тексеру.

5. Геномдарды реконструкциялау және адам патогендерінің ең маңызды ежелгі штаммдарының филогенетикалық талдауы.

6. Анықталған қоздырғыштар бойынша адам популяцияларының миграциялық тарихы арасындағы байланыстарды талдау.

Зерттеу нысандары. Зерттеу нысандары біздің дәуірімізге дейінгі VII-ғасырдан біздің дәуіріміздің XIV ғасырға дейін аралықта 360 ежелгі адамның сүйек фрагменттері мен тіс үлгілері, оның 205- қазіргі Қазақстан аумағынан, 120- Қырғызстаннан, 35- Ресейден болды.

Зерттеу әдістері. Диссертациялық жұмыста аурудың ежелгі қоздырғыштарының геномдарына бағытталған адам сүйек қалдықтарын палеогенетикалық талдаудың заманауи әдістерінің кешені пайдаланылды. Палео-ДНҚ кітапханаларының NGS секвенирлеуі Illumina платформаларында (HiSeq 4000 / MiSeq) орындалды. Бастапқы NGS деректерін биоинформатикалық өңдеу және белгілі патогендерді скринингтік тексеру ежелгі ДНҚ талдауына мамандандырылған EAGER және HOPS бағдарламалар арқылы жүзеге асырылды. Адамның палео-ДНҚ үлгілерінде оба қоздырғыштарының ежелгі штаммдарының болуы *Yersinia pestis* ДНҚ арнайы праймерлерді пайдалана отырып скрининг жасау, NGS деректерін биоинформатикалық талдау. Маңызды патогендерге қатысты биоинформатикалық скрининг нәтижелерін MEGAN, VCF, BEAST, R-Studio бағдарламалар арқылы тексеріліп, кейбір патогендік организмдердің филогенетикалық талдауы жүргізілді.

Зерттеудің жаңалығы. Бұл жұмыста дүние жүзінде алғаш рет қазіргі Қазақстан аумағынан, Қырғызстан мен Ресейден археологиялық материалдарды зерттеу нәтижесінде аурулардың ежелгі қоздырғыштарына талдау жасалды. Орталық Еуразия даласының аумағынан алынған деректердің мұндай үлкен массиві (360 ежелгі тұлғалар) алғаш рет зерттелді. Қауіпті инфекциялардың осы көне қоздырғыштарына қатысты гепатит В және *Y. pestis* штаммдарының ДНҚ талдауындағы барлық соңғы жетістіктер эволюциялық, медициналық және экологиялық контексте жинақталған.

Сондай-ақ Қызыл қорымынан алынған темір дәуіріне жататын үлгіде *Y. pestis* ежелгі штаммы және несториан зиратының 3 үлгісінен *Y. pestis* ортағасырлық штаммдары табылуы да зерттеудің жаңалығы болып табылады.

Қара-Джигач, Еуропадағы екінші оба індетінің («Қара өлім») генетикалық алғышарты болып табылады.

Жұмыстың теориялық маңызы осы уақытқа дейін Қазақстан аумағында таралып жүрген көне жұқпалы ауруларды зерттеуге қатысты жұмыс жүргізілмегендігінде.

Жұмыстың теориялық маңыздылығы заманауи палеогенетикалық талдау әдістерінің пайдаланып, ежелгі патогендер, олардың филогенезін және тарихи оқиғалармен байланысын жан-жақты талдауда. Ежелгі қоздырғыштардың генетикалық зерттеулерінің нәтижелерін археология, тарих және палеопатология, сондай-ақ адам популяцияларының генетикасы сияқты басқа пәндердің деректерімен біріктіру арқылы адамдар мен патогендердің арасындағы қарым-қатынастың неғұрлым толық бейнесін құруға, және қазіргі заманғы жұқпалы аурулар, ежелгі көші-қон жолын қадағалап, адамзат тарихының аспектілеріндегі білімді толықтыру.

Диссертациялық жұмыстың практикалық маңызы. Зерттеу барысында әдістемелік маңызы бар ежелгі қоздырғыштарды талдаудың тиімді әдістері белгіленді. Пәнаралық сипаттағы зерттеу нәтижелері сабақтас ғылымдар мамандарын (дәрігерлер, антропологтар, археологтар, демографтар және тарихшылар) қызықтырады. Жұмыс нәтижелерінің тәрбиелік мәні кең, оқу процесінде биологиялық, медициналық, тарихи мамандықтардың студенттеріне арналған лекциялар мен семинарлар курстарын дайындауда, біліктілікті арттыру курстарын дамытуда пайдаланылады, сондай-ақ ғылымды танымал етуде пайдаланылады.

Зерттеу нәтижелері Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің «7M05115 – Биомедициналық инженерия» мамандығы бойынша «ІМКВ 5206» инженерлік молекулалық жасушалар биологиясы» пәнінің оқу бағдарламасына енгізілген. Сонымен қатар, палеогенетикалық талдау үшін көне сүйек материалын жинау әдістері Павлодар қ. Торайғыров Университетіндегі Археологиялық зерттеулер орталығы мен Алматы қ. ШЖҚ РМК Ә.Х.Марғұлан атындағы Археология институтында енгізілді.

Қорғауға ұсынылатын негізгі тұжырымдар:

1. Біздің эрамызға дейінгі VII ғасырдан және б.з. XIV ғасырға дейін жататын 360 ежелгі тұлғаларды және 110 археологиялық олжаларды бейнелейтін сүйек қалдықтарының палео-ДНҚ коллекциясы жасалынды. Қазіргі Қазақстан (81 олжа, 205 үлгі), Қырғызстан (22 олжа, 120 үлгі) және Ресей (7 олжа, 35 үлгі) аумағынан табылған үлгілер.

2. Қола және темір дәуірінің Орталық Еуразия даласының ежелгі дүниесінің ең көп тараған қоздырғыштары кариес, қызыл иектің және ауыз қуысының басқа жұмсақ тіндерінің ауруларын тудыратын микроорганизмдер болды (*Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus*. *gordonii*, *Tannerella forsythia*, *Veillonella parvula* және т.б.). Венерологиялық аурулар жиі кездесетін. В гепатиті (HBV), оба (*Yersinia pestis*), сальмонеллез (*Salmonella enterica*) сияқты аурулар тек санаулы адамдарда байқалды.

3. Қазақстан территориясынан В гепатиті вирусының көне штаммдары (Берел қорымынан 3 жеке Пазырық пен ғұн-ксяньби мәдениеті және Ақбейіт қорымынан Тасмола мәдениетінің 1 үлгісі) ұқсастығын анықтайтын D генотипімен сипатталады. Еуразияда айналымда жүрген заманауи HBV штаммдары (А және D генотиптері).

4. Орталық Еуразия мен Еуропада *Y. pestis* таралуы мен эволюциясы неолиттің соңғы кезеңінен ерте темір дәуіріне дейінгі кезең (LNBA) параллельді түрде жүргізілді. Бұл LNBA линияларының ортақ шығу тегі және *pla*-генінің жұқпалы нұсқасының болуымен дәлелденеді. Кейбір көне линиялар, соның ішінде Қызыл қорымынан алынған үлгі (Орталық Қазақстан, Тасмолин мәдениеті, ерте темір дәуірі) экстенсивті делециялар мен псевдогенизация нәтижесінде вируленттілікке жауап беретін гендерден айырылған (адгезия гені *uapC*), иесінің иммундық қорғанысынан (*flgB* және *fliZ* флагеллин гендері) және бүргелерден оба таяқшасының тиімді берілуі (*ymt* және *YPM1* гендер). Сонымен қатар, VI типті секреция жүйесінің (T6SS) гендерінің, атап айтқанда T6SS-G жоғалуын қоса алғанда, ең ауқымды делеция (~83 кб) *Y. pestis* Қызыл қорымнан оның вируленттілігінің әлсіреуімен сипаттайды.

5. Қара-Джигач және Бурана (Қырғызстан) несториандық зираттарынан алынған *Y. pestis* ортағасырлық штаммдары Еуропадағы екінші оба індетінің («Қара өлім») генетикалық алғышарты болып табылады. Филогения бұл штаммдарды екінші оба індеті геномдарының тектік формасы ретінде анықтайды, оны бір SNP арқылы Еділ бойындағы пандемиямен және екі SNP арқылы Қара өліммен байланысты изоляттардан бөледі.

6. Шығыс Қазақстаннан әр түрлі мәдениеттер мен кезеңдердің өкілдері арасында бірнеше, әрі қауіпті қоздырғыштардың тасымалдануы, сондай-ақ адам популяциясы геномының негізгі компоненттерін талдау Алтай тауларының көші-қон жолдарының тоғысуында ерекше маңыздылығын көрсетеді. Ежелгі халықтың Шығыс пен Батыстан Орталық Еуразия аймағына уақытпен белгіленген көші-қонының байлығын және әлеуметтік-экономикалық байланыстарын анықтайтын жолдар HBV және *Y. pestis* сияқты қоздырғыштардың филогенезін патогенді тасымалдаушы ежелгі адамдардың популяциялық тарихымен салыстыру қауымдастығының тарихымен сәйкес келеді.

Негізгі ғылыми жұмыстардың жоспарымен байланыс. Диссертациялық жұмыс ішінара «Қазақтардың этногенезі мәселелерін шешу үшін Ұлы даланың ерте тарихын білдіретін маңызды құбылыстарды талдау» жобасымен (2018-2020 ж.ж.) және 2020-2022 жылдарға арналған «Орталық Еуразия аймағын көрсететін археологиялық адам қалдықтарындағы патогендік микроорганизмдердің палеогенетикалық талдауы» тақырыбындағы жобамен байланысты. Орталық Еуразия аймағын көрсететін археологиялық адам қалдықтарындағы патогендік микроорганизмдер» гранты және «Орталық Азия аумағынан алынған адам қалдықтарынан *Salmonella enterica* көне геномдарын талдау» гранты.

Автордың жеке үлесі. Диссертация тақырыбы бойынша әдеби деректермен жұмыс; археологиялық материалдар бойынша ақпарат жинау; М.В.Ломоносов атындағы Мәскеу мемлекеттік университетінің ғылыми-зерттеу институтының мұражайынан қажетті үлгілерді іріктеу үшін каталогпен жұмыс жасау; археологтармен байланыс; археологиялық үлгілерді жинау; бүкіл зертханалық бөлім: үлгілерді дайындау, сүйек жаңқаларын дайындау, ДНҚ бөліп алу үшін ерітінділерді дайындау, палеоДНҚ бөліп алу, ингибирлеу сынағы, *pla* гені арқылы *Y.pestis* скринингі, толық геномды секвенирлеуге арналған кітапханаларды дайындау, концентрацияларды есептеу және үлгілерді *Shumina* дайындау, ежелгі патогенді микроорганизмді растау. Алынған палео-ДНҚ үлгілеріндегі патогенді микроорганизмдердің биоинформатикалық скринингі. Жиналған үлгілер негізінде археологиялық сипаттамаларды іздеу және нақтылау. Үлгілер туралы ақпаратты PANDORA дерекқорына енгізу. Орындау актісін, тезистерді, мақалаларды және диссертация материалдарын дайындау.

Жұмыстың апробациясы. Негізгі нәтижелер мен бақылаулар Web of Science, Scopus және БҒСБК ұсынған деректер базасына еңгізілген беделді халықаралық ғылыми журналдарда жарияланған. Нәтижелері институттың ғылыми семинарларында талқыланып, халықаралық және республикалық ғылыми конференцияларда баяндалған.

Жарияланымдар және автордың жеке үлестері. Диссертация тақырыбы бойынша зерттеудің негізгі нәтижелері 9 ғылыми мақалада жарияланды, оның ішінде 4 мақала импакт-факторлары бар Thomson Reuters және Scopus деректер базасына еңгізілген халықаралық рецензияланған журналдарда (IF = 14,136; IF = 41,846, IF = 11.205, IF = 49.962) және 3 мақала, оның ішінде біреуі ҚР БҒМ БҒСБК ұсынған журналында, және Қазақстан мен шетелде өткен республикалық және халықаралық конференцияларда 2 тезис кіреді.

Дипломдық жұмыстың құрылымы. Диссертация 115 беттен тұрады және атаулар мен қысқартулардан, кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, материалдар мен зерттеу әдістерінен, нәтижелер мен оларды талқылаудан, қорытындылардан және 184 атаудан, оның ішінде 176 ағылшын тілінде пайдаланылған дереккөздер тізімінен тұрады. Жұмыста 25 сурет, 5 кесте және 6 қосымшасы бар.