

ISSN 2518-1629 (Online),
ISSN 2224-5308 (Print)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ
Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
Института биологии и биотехнологии растений

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
of the Institute of Plant Biology and Biotechnology

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ МЕДИЦИНА
СЕРИЯСЫ**



СЕРИЯ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ



SERIES

OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

4 (322)

ШІЛДЕ – ТАМЫЗ 2017 ж.

ИЮЛЬ – АВГУСТ 2017 г.

JULY – AUGUST 2017

1963 ЖЫЛДЫҢ ҚАҢТАР АЙЫНАН ШЫҒА БАСТАҒАН
ИЗДАЕТСЯ С ЯНВАРЯ 1963 ГОДА
PUBLISHED SINCE JANUARY 1963

ЖЫЛЫНА 6 РЕТ ШЫҒАДЫ
ВЫХОДИТ 6 РАЗ В ГОД
PUBLISHED 6 TIMES A YEAR

АЛМАТЫ, ҚР ҰҒА
АЛМАТЫ, НАН РК
ALMATY, NAS RK

Б а с р е д а к т о р

ҚР ҰҒА академигі, м. ғ. д., проф. **Ж. А. Арзықұлов**

Абжанов Архат проф. (Бостон, АҚШ),
Абелев С.К., проф. (Мәскеу, Ресей),
Айтқожина Н.А., проф., академик (Қазақстан)
Акшулаков С.К., проф., академик (Қазақстан)
Алшынбаев М.К., проф., академик (Қазақстан)
Бәтпенев Н.Д., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Березин В.Э., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Берсімбаев Р.И., проф., академик (Қазақстан)
Беркінбаев С.Ф., проф., (Қазақстан)
Бисенбаев А.К., проф., академик (Қазақстан)
Бишимбаева Н.К., проф., академик (Қазақстан)
Ботабекова Т.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Bosch Ernesto prof. (Spain)
Жансүгірова Л.Б., б.ғ.к., проф. (Қазақстан)
Елленbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин Қ.Ж., проф., академик (Қазақстан), бас ред. орынбасары
Заядан Б.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Ishchenko Alexander prof. (Villejuif, France)
Исаева Р.Б., проф., (Қазақстан)
Қайдарова Д.Р., проф., академик (Қазақстан)
Кохметова А.М., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Күзденбаева Р.С., проф., академик (Қазақстан)
Лось Д.А., prof. (Мәскеу, Ресей)
Lunenfeld Bruno prof. (Израиль)
Макашев Е.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Муминов Т.А., проф., академик (Қазақстан)
Огарь Н.П., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Омаров Р.Т., б.ғ.к., проф., (Қазақстан)
Продеус А.П. проф. (Ресей)
Purton Saul prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Сапарбаев Мұрат проф. (Париж, Франция)
Сарбасов Дос проф. (Хьюстон, АҚШ)
Тұрысбеков Е.К., б.ғ.к., асс.проф. (Қазақстан)
Шарманов А.Т., проф. (АҚШ)

«ҚР ҰҒА Хабарлары. Биология және медициналық сериясы».

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

Меншіктенуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы» РҚБ (Алматы қ.)

Қазақстан республикасының Мәдениет пен ақпарат министрлігінің Ақпарат және мұрағат комитетінде
01.06.2006 ж. берілген №5546-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 300 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28, 219 бөл., 220, тел.: 272-13-19, 272-13-18,
www.nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2017

Типографияның мекенжайы: «Аруна» ЖК, Алматы қ., Муратбаева көш., 75.

Г л а в н ы й р е д а к т о р

академик НАН РК, д.м.н., проф. **Ж. А. Арзыкулов**

Абжанов Архат проф. (Бостон, США),
Абелев С.К. проф. (Москва, Россия),
Айтхожина Н.А. проф., академик (Казахстан)
Акшулаков С.К. проф., академик (Казахстан)
Алчинбаев М.К. проф., академик (Казахстан)
Батпенов Н.Д. проф. член-корр.НАН РК (Казахстан)
Березин В.Э., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Берсимбаев Р.И., проф., академик (Казахстан)
Беркинбаев С.Ф. проф. (Казахстан)
Бисенбаев А.К. проф., академик (Казахстан)
Бишимбаева Н.К. проф., академик (Казахстан)
Ботабекова Т.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Bosch Ernesto prof. (Spain)
Джансугурова Л. Б. к.б.н., проф. (Казахстан)
Ellenbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин К.Ж. проф., академик (Казахстан), зам. гл. ред.
Заядан Б.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Исаева Р.Б. проф. (Казахстан)
Кайдарова Д.Р. проф., академик (Казахстан)
Кохметова А.М. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Кузденбаева Р.С. проф., академик (Казахстан)
Лось Д.А. prof. (Москва, Россия)
Lunenfeld Bruno prof. (Израиль)
Макашев Е.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Муминов Т.А. проф., академик (Казахстан)
Огарь Н.П. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Омаров Р.Т. к.б.н., проф. (Казахстан)
Продеус А.П. проф. (Россия)
Purton Saul prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Сапарбаев Мурат проф. (Париж, Франция)
Сарбасов Дос проф. (Хьюстон, США)
Турьсыбеков Е. К., к.б.н., асс.проф. (Казахстан)
Шарманов А.Т. проф. (США)

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская».

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы)

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов
Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5546-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год

Тираж: 300 экземпляров

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28, ком. 219, 220, тел. 272-13-19, 272-13-18,
www.nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2017

Адрес типографии: ИП «Аруна», г. Алматы, ул. Муратбаева, 75

Editor in chief

Zh.A. Arzykulov, academician of NAS RK, Dr. med., prof.

Abzhanov Arkhat, prof. (Boston, USA),
Abelev S.K., prof. (Moscow, Russia),
Aitkhozhina N.A., prof., academician (Kazakhstan)
Akshulakov S.K., prof., academician (Kazakhstan)
Alchinbayev M.K., prof., academician (Kazakhstan)
Batpenov N.D., prof., corr. member (Kazakhstan)
Berezin V.Ye., prof., corr. member. (Kazakhstan)
Bersimbayev R.I., prof., academician (Kazakhstan)
Berkinbaev S.F., prof. (Kazakhstan)
Bisenbayev A.K., prof., academician (Kazakhstan)
Bishimbayeva N.K., prof., academician (Kazakhstan)
Botabekova T.K., prof., corr. member. (Kazakhstan)
Bosch Ernesto, prof. (Spain)
Dzhansugurova L.B., Cand. biol., prof. (Kazakhstan)
Ellenbogen Adrian, prof. (Tel-Aviv, Israel),
Zhambakin K.Zh., prof., academician (Kazakhstan), deputy editor-in-chief
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Isayeva R.B., prof. (Kazakhstan)
Kaydarova D.R., prof., academician (Kazakhstan)
Kokhmetova A., prof., corr. member (Kazakhstan)
Kuzdenbayeva R.S., prof., academician (Kazakhstan)
Los D.A., prof. (Moscow, Russia)
Lunefeld Bruno, prof. (Israel)
Makashev E.K., prof., corr. member (Kazakhstan)
Muminov T.A., prof., academician (Kazakhstan)
Ogar N.P., prof., corr. member (Kazakhstan)
Omarov R.T., Cand. biol., prof. (Kazakhstan)
Prodeus A.P., prof. (Russia)
Purton Saul, prof. (London, UK)
Rakhypbekov T.K., prof., corr. member. (Kazakhstan)
Saparbayev Murat, prof. (Paris, France)
Sarbassov Dos, prof. (Houston, USA)
Turysbekov E.K., cand. biol., assoc. prof. (Kazakhstan)
Sharmanov A.T., prof. (USA)

News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty)

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of information and archives of the Ministry of culture and information of the Republic of Kazakhstan N 5546-Ж, issued 01.06.2006

Periodicity: 6 times a year

Circulation: 300 copies

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,
<http://nauka-nanrk.kz> / biological-medical.kz

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2017

Address of printing house: ST "Aruna", 75, Muratbayev str, Almaty

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 4, Number 322 (2017), 78 – 88

**L. B. Dzhanugurova¹, V. F. Zaibert², E. P. Kitov³, O. A. Ixan¹, Nurzhibek¹,
G. S. Zhunussova¹, K. B. Dzhanataeva¹, E. B. Kuzovleva¹, E. M. Khussainova¹**

¹Laboratory of Population Genetics, «Institute of General Genetics and Cytology» CS MES RK,
Almaty, Kazakhstan,

²North-Kazakhstan Regional Museum Association, Petropavlovsk, Kazakhstan,

³Institute of archaeology named after A. Kh. Margulan, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: leylad@mail.ru

PALEOGENETIC INVESTIGATION OF THE HUMAN REMAINS OF THE ENEOLITHIC PERIOD FROM THE SETTLEMENT OF BOTAI

Abstract. The article presents the results of molecular genetic studies of ancient DNA of the Eneolithic period using genetic markers of mitochondrial DNA and Y chromosome. The male sex of the individual was investigated by PCR amplifications of male-specific repeat DYZ1 on the Y chromosome. The phylogenetic interpretation of data by the structure of mitochondrial DNA and the allelic profile of Y-chromosome STR-loci is presented.

Keywords: paleogenetics, ancient DNA, Y-STR markers, mitochondrial DNA.

УДК 569.9:575.17

**Л. Б. Джансугурова¹, В. Ф. Зайберт², Е. П. Китов³, О. А. Иксан¹, Нуржибек¹,
Г. С. Жунусова¹, К. Б. Джантаева¹, Е. Б. Кузовлева¹, Э. М. Хусаинова¹**

¹Лаборатория популяционной генетики, РГП «Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК,
Алматы, Казахстан,

²Северо-Казахстанское региональное музейное объединение, Петропавловск, Казахстан,

³РГКП «Институт археологии им. А. Х. Маргулана» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

ПАЛЕОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ ОСТАНКОВ ЭНЕОЛЕНИЧЕСКОГО ПЕРИОДА С ПОСЕЛЕНИЯ БОТАЙ

Аннотация. В статье представлены результаты молекулярно-генетического исследования древней ДНК энеоленического периода с использованием генетических маркеров митохондриальной ДНК и Y-хромосомы. Установлен мужской пол исследуемого индивида с помощью ПЦР-амплификации специфического повтора хромосомы Y DYZ1. Приведена филогенетическая интерпритация данных по структуре митохондриальной ДНК и аллельному профилю STR-локусов Y-хромосомы.

Ключевые слова: палеогенетика, древняя ДНК, STR-маркеры Y-хромосомы, митохондриальная ДНК.

В результате археологических работ в 1980 г. на территории нынешней Северо-Казахстанской области (недалеко от села Никольское, у реки Иман-Бурлук) было исследовано однослойное энеоленическое поселение Ботай [1]. В 1983 г. было открыто близкое по структурным характеристикам и материальной культуре поселение Рошинское [2]. Несколько позднее были исследованы подобные по археологическому инвентарю поселения Тоболо-Иртышского междуречья (Баландино, Красный Яр, Васильковка, Сергеевка). Стало ясно, что в это время на данной территории сложилась оригинальная археологическая культура со своеобразными чертами хозяйственного уклада. Все эти открытия поставили вопрос о выделении новой энеоленической культуры - ботайской [3].

Первые хронологические представления о начале существования культуры – 3700-3100 лет до н. э. Само поселение Ботай, предположительно, просуществовало до XIV вв. до н.э. Во время раскопок на территории памятника было найдено 158 жилищ. В процессе исследований выяснилось, что большинство их связано с последним периодом существования поселения.

Анализ многочисленных артефактов энеолитических поселений ботайской культуры свидетельствует о многоотраслевом комплексном хозяйстве, основу которого составляло коневодство, о чем говорят и находки костяных псалий, застежек пут, проколов для ветеринарных целей, что свидетельствует о начале одомашнивания лошади.

Жилища ботайцев представляли собой полуземлянки округлой или многоугольной формы площадью от 30 до 70 м². Котлован глубиной 60-80 см. По краям котлована выкладывались глинобитные стены с забутовкой костями; высота стены достигала 80 см. Выше сооружалось шатровое перекрытие из жердей и бревен. Наибольшая высота жилища в центре составляла от 270 до 350 см. В целом жилища ботайской культуры напоминают конструкцию типа «шошала», но углубленные в землю.

На поселении Ботай были обнаружены захоронения людей. Они находились в жилищах, прекративших существование по основному назначению. В жилище сооружалась погребальная камера, состоящая из глиняной отмостки с перекрытием из жердей. Кроме того, по периметру основание обкладывалось черепами лошадей в два яруса. Захоронение было групповым и разно-временным, сопровождалось украшениями из бус, изготовленных из раковин.

На данном этапе наука обладает лишь 4-мя черепами, обнаруженными участниками экспедиции В.Ф. Зайберга при раскопках в течение 1981-1983 гг. ботайского энеолитического поселения Кокчетавской области, а также огромным множеством костей древних лошадей.

Стоит отметить, что по ботайским материалам была проведена датировка костного материала английскими учеными [4]. Согласно полученным данным радиоуглеродного анализа древние кости датированы 3500 лет до н.э.



Рисунок 1 – Череп с территории поселения Ботай, скелет 2

Нео – энеолитические материалы степной части Азии указывают на существование особого степного антропологического типа, складывавшегося в степном ареале Казахстана. Опорную роль в выделении такого антропологического субстрата имеют именно ботайские материалы. Этот древний пласт с точки зрения морфологии можно было бы именовать как «степной казахстанский». Этот антропологический тип проявился в «ямной» среде западной части Казахстана, видимо, в определенной доле, вошел в состав афанасьевского населения Алтае-Саяно-Хангайском нагорья. В дальнейшем, судя по краниологическим материалам средней и поздней бронзы Волго-Уралья и Казахстана, он составил местную антропологическую основу для формировавшегося синташтинско-потоповского населения. Эти наблюдения согласуются с археологическими представлениями, по которым в качестве одной из основ синташтинского культурогенеза видят энеолитические группы северного Казахстана ботайско-терсекско-суртандинского круга [5].

Материалы и методы исследований

Объектом исследования были костные останки человека с поселения «Ботай» (Северо-Казахстанская область) энеолитического периода (IV- III тысячелетие до н.э.)

Забор образцов костной ткани для палеогенетического исследования. Забор костной ткани черепа ботайца (кусочек губчатой ткани *Glenoid fossa*) и зуба (правый верхний центральный резец) для анализа ДНК был произведен нашим сотрудником в сентябре 2015 г. в помещении Северо-Казахстанского областного Музейного объединения. На рисунке 2 представлены этапы забора фрагмента черепа *Glenoid fossa* и зуба для ДНК анализа.



Рисунок 2 – Забор фрагментов костной ткани и зуба с черепа человека из поселения Ботай (КГКП «Северо-Казахстанское областное музейное объединение», г. Петропавловск)

Выделение палео-ДНК. Для выделения ДНК использовали зуб и образец губчатой ткани с внутренней части (*Glenoid fossa*) черепа ботайца (рисунок 3). Сохранность материала для такого древнего объекта периода энеолита была хорошей, вероятно ввиду сухости песчано-глинистых почв Ботая.

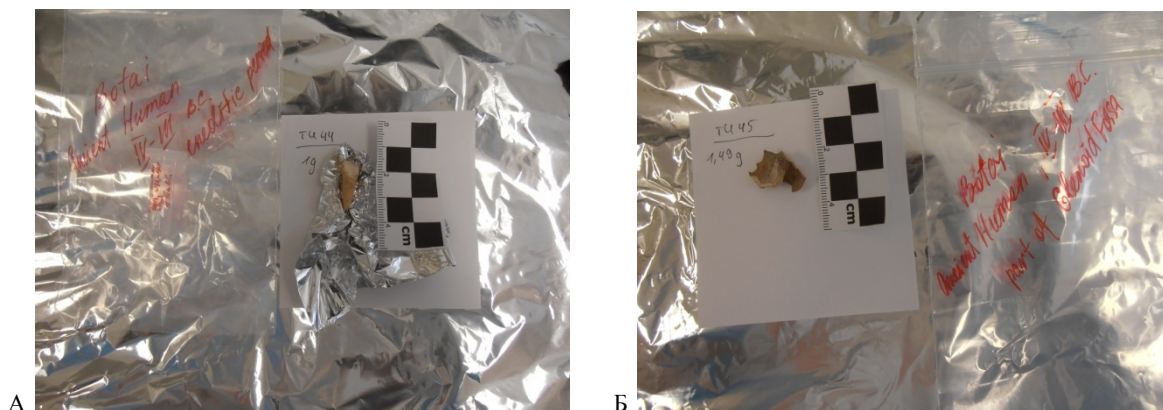


Рисунок 3 – Костные образцы человека с поселения Ботай перед выделением ДНК:
А – зуб; Б – спил с черепа - *Glenoid fossa*

Фрагменты костей черепа и зуб последовательно полоскали деионизированной водой, 96% спиртом и вновь деионизированной водой, затем гомогенизировали с помощью ультразвукового гомогенизатора Tissue Laser II в режиме - 30 Гц, 40 сек. Используя 1,5 мл раствора 0,5 М ЭДТА, pH 8,0 проводили декальцинацию костной муки в течение 1 часа на качалке при 25°C, Rpm 1000. Центрифугировали 30 сек при 1000 об/мин, сливали супернатант. В пробирки добавляли 1 мл H₂O, промывали, хорошо ресуспендируя осадок. Центрифугировали 30 сек при 1000 об/мин. Сливали супернатант и снова декальцинировали путем добавления 1,5 мл декальцинирующего раствора (0,5 М ЭДТА, pH 8,0), хорошо ресуспендировали и инкубировали в течение 1 часа (качалка: 25°C, Rpm 1000). После чего центрифугировали в течение 30 сек при 1000 об/мин. Сливали супернатант, промывали 1 H₂O, центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин. Промывку водой повто-

ряли. После центрифугирования в течение 5 мин при 3000 об/мин и сливали супернатант. К оставшемуся гелеобразному осадку добавляли 1,5 мл лизирующего буфера TNES (10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 100 mM EDTA, pH 8.0, 50 mM NaCl, 2% SDS) и 5-6 мкл проназы К (Promega). Инкубировали в течение ночи (16-24 часа): при 56°C – 1 час (400 RPM, на боку), 15-23 часа при 37°C. Центрифугировали в течение 5 мин при 10000 об/мин, отбирали лизат. Полученный клеточный лизат аликвотили в пробирки (1,5-2 мл) по 500 мкл.

Далее для осаждения ДНК использовали реагенты набора реактивов «ДНК-Сорб-В» (Россия). Тщательно ресуспендировали сорбент (Сорбент универсальный) на вортексе. В каждую пробирку отдельным наконечником добавили по 25 мкл ресуспендированного сорбента. Тщательно перемешали, инкубировали 2 мин, еще раз мешали и оставили еще на 5 мин. Сорбент осаждали центрифугированием при 5000 об/мин, 30 сек, удаляли надосадочную жидкость. К осадку добавили 300 мкл Раствора для отмывки 1, перемешали на вортексе. Затем осадили центрифугированием при 5000 об/мин в течение 30 сек. К осадку добавили 500 мкл Раствора для отмывки 2, тщательно перемешали и осадили центрифугированием при 10000 об/мин в течение 30 сек. Надосадочную жидкость удаляли полностью. Процедуру отмывки повторяли. Для просушивания Сорбента пробирки с открытыми крышками помещали в термостат при 65°C на 5-10 мин. После чего добавили 50 мкл ТЕ-буфера для элюции ДНК, перемешивали на вортексе и инкубировали в термостате при 65°C в течение 5 мин, периодически встряхивая на вортексе. Для лучшей элюции пробирки оставляли на ночь в холодильнике на 4°C. Центрифугировали при 12000 об/мин в течение 1 мин.

Надосадочная жидкость представляет собой раствор ДНК, который можно непосредственно использовать для ПЦР или хранить: 1 неделю при 2-8°C или в течение года при -16°C и ниже. Эффективность выделения ДНК – 50-70%.

Генотипирование по STR-локусам Y-хромосомы. Генотипирование полиморфных 17 STR-локусов (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS385a, DYS385b, DYS437, DYS438, DYS439, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635, GATA H4) Y-хромосомы, проводили в мультилокусном формате с помощью ПЦР с использованием системы энзиматической амплификации – набора AmpFISTR Yfiler™ (Life Technologies, США).

Полимеразную цепную реакцию проводили в ПЦР-боксе («LS» (Россия)) согласно протоколу изготовителя с использованием амплификатора “Mastercycler” фирмы «Eppendorf» (Германия). Смесь для амплификации объемом 25 мкл включала следующие компоненты: 10 мкл выделенной геномной ДНК (0,5 нг), 0,8 мкл (4 единиц) AmpliTaq Gold ДНК полимеразы (Life Technologies), 9,2 мкл набора AmpFISTR Yfiler™ ПЦР реакционной смеси, а также 5 мкл набора праймеров AmpFSTRs Yfiler™. Для оценки специфичности реакции амплификации использовали положительный (контрольная ДНК с известными генетическими признаками из набора реагентов) и отрицательный (проба без ДНК) контроли. Стандартные условия ПЦР-амплификации состоял из ферментативной активации в течение 11 мин при 95°C, затем следовал блок из 30 циклов: денатурация при 94°C в течение 1 мин, отжиг при 61°C в течение 1 мин и удлинение при 72°C в течение 1 мин. Финальное удлинение осуществлялась при 60°C в течение 80 мин.

Анализ продуктов амплификации. В наборе AmpFISTR Yfiler™ содержатся красители, используемые для мечения амплифицируемых продуктов: 6-FAM, VIC, NED, PET и LIZ. Продукты амплификации разделяли и определяли на генетическом анализаторе ABI PRISM 310 (Applied Biosystems, США), используя определенный G5 переменный биннинговый модуль, как описано в руководстве пользователя [6]. Подготовка образцов и электрофорез на анализаторе ABI PRISM 310 происходили следующим образом: 1 мкл амплифицированного продукта или аллельного лэддера (маркера) и 0,3 мкл 500 LIZ стандартного размера GeneScan™ добавляли к 8,7 мкл деионизованному Hi-Di™ формамиду (Applied Biosystems), денатурировали при 95°C в течение 3 мин, а затем охлаждали на льду в течение 3 мин. Образцы вводились в течение 10 сек при 5 кВ и подвергались электрофорезу при 15 кВ в оптимизированном полимере (POP-4™ полимер) с запуском при температуре 60°C, как указано в инструкции GeneScan36vb_POP4DyeSetG5Module. Идентификацию аллелей проводили с помощью программного обеспечения «GeneMapperID» ID-X v1.4 на основе входящих в состав наборов аллельных лэддеров.

Определение гаплогрупп Y-хромосомы. Гаплогруппы по Y-хромосоме были определены на сайте «Whit Athey's Haplotype Predictor» (<http://www.hprg.com>) [7]. Процентное соотношение

вероятности к тем или иным гаплогруппам различается в зависимости от выбора программы (программы по количеству маркеров и гаплогрупп).

Гаплотипы определяли с помощью программы «27-Haplogroup Program» для 27 гаплотипов (<http://www.hprg.com/hapest5/hapest5b/hapest5.htm>) с учетом максимально известного числа гаплотипов по STR-маркерам.

Полногеномное секвенирование древней ДНК и биоинформационный анализ результатов секвенирования мтДНК. Из препаратов изолированной палео-ДНК была приготовлена ДНК-библиотека согласно модифицированному протоколу Illumina [8]. Библиотека была секвенирована на платформе Illumina Genome Analyser Ix согласно методике производителя.

Для определения гаплогрупп использовалось программное обеспечение – mtDNA manager [9]. Для анализа полногеномной секвенированной последовательности мтДНК и определения гаплотипов мтДНК также были использованы программы Haplofind (<https://haplofind.unibo.it>) и Bioedit (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/page2.html>).

Определение пола древнего объекта по ДНК. Для молекулярно-генетического определения пола применили сайт-специфическую ПЦР-амплификацию короткого фрагмента альфоидного прицентромерного повтора Y-хромосомы DYZ1. Этот повтор небольшой по размеру, специфичен для Y-хромосомы и имеет множество копий (около 3000 копий на мужской геном), что делает возможным определить наличие Y-хромосомы в древнем материале с высокой степенью деградации. Праймеры (DYZ1-2401-direct – 5'-TCCATTCCTCCGTTCCGTTACATCA-3' и DYZ1-2681-reverse – 5'-ATCAAACGGAATGGAATGGAATGGACAACC-3') синтезировали на автоматическом синтезаторе олигонуклеотидов ASM-800 (Новосибирск, Россия). ПЦР проводили в следующем режиме: начальная денатурация 2 мин при 95°C, за которой следовали 40 циклов амплификации в режиме: денатурация 94°C - 30 сек; отжиг праймеров - 60°C, 30 сек; синтез ДНК - 72°C, 2 мин; и заключительный цикл финального удлинения - 72°C, 6 мин. Длину ампликона (305 пар нуклеотидов) устанавливали при окрашивании бромистым этидием с помощью электрофореза в 1,8% полиакриламидном геле с визуализацией в проходящем УФ- свете.

Результаты исследования и их обсуждение

Для исследуемого индивида энеолитического периода с поселения Ботай была получена серия из пяти экстрактов ДНК (три из губчатой ткани *Glenoid fossa* и 2 из зуба (правый верхний центральный резец)). Результаты анализа качества изолированной палео-ДНК показали, что ДНК подверглась нуклеазной деградации по межнуклеосомным промежуткам (фракция фрагментов ДНК длиной около 200 пар нуклеотидов). В то же время, как в зубной ткани, так и в ткани черепа в концентрациях более 100 нг/мкл представлены фракции более высокомолекулярных фрагментов ДНК (более 1000 пар нуклеотидов). Таким образом, данные препараты ДНК пригодны для информативного анализа (рисунок 3).

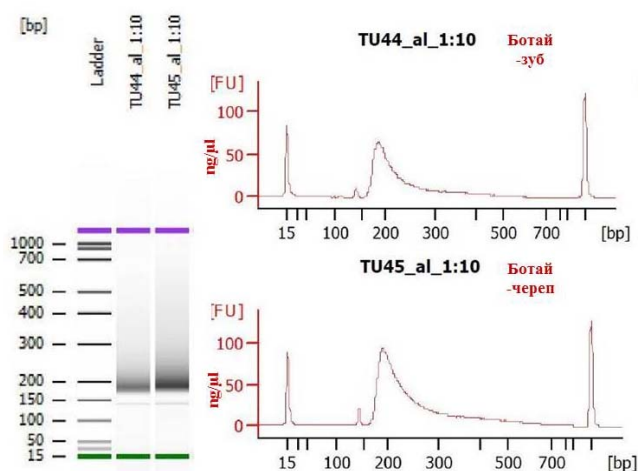


Рисунок 3 – Характер фрагментации образцов палео-ДНК человека с поселения Ботай, выделенных из зуба и ткани черепа (*Glenoid fossa*)

Половая принадлежность исследуемого индивида. Определение пола индивида сводится к установлению присутствия или отсутствия в образцах палео-ДНК Y-хромосомы. В рамках нашего исследования мы применили два подхода к решению этой задачи: система амплификации короткого фрагмента альфоидного прицентромерного повтора хромосомы Y DYZ1 и генотипирование STR-локусов Y-хромосомы.

Для анализа фрагмента альфоидного прицентромерного повтора хромосомы Y DYZ1 были синтезированы сайт-специфичные праймеры, фланкирующая мономер этого микросателлитного повтора. С целью исключения ложноотрицательного результата ПЦР проводили с двойным контролем. В качестве позитивного контроля использовали ДНК современного мужчины, а в качестве негативного контроля использовали сходные по размеру амплификаты D-петли мтДНК современной женщины. Использование 2-х вариантов контроля позволяет отличить отсутствие Y-хромосомы от тотальной деградации палео-ДНК. Результаты анализа короткого фрагмента альфоидного прицентромерного повтора хромосомы Y DYZ1 у исследуемого индивида с поселения Ботай представлены на рисунке 4.

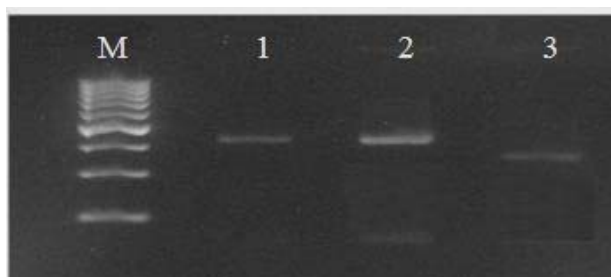


Рисунок 4 – Результаты ДНК-анализа на определение пола Ботайского человека:

М – маркер (*O'RangeRuler™ 100bp DNA Ladder, ThermoFisher Scientific, США*); 1 – палео-ДНК ботайца, фрагмент размером 305 bp; 2 – позитивный контроль: ДНК современного мужчины, фрагмент размером 305 bp; 3 – негативный контроль: амплификат мтДНК современной женщины L15989-H16190 размером 239 bp

Согласно полученным данным, в образцах ДНК Ботайского человека и современного мужчины присутствует фрагмент размером 305 п.н., соответствующий фрагменту альфоидного прицентромерного повтора хромосомы Y DYZ1.

Анализ STR-локусов Y-хромосомы с использованием набора AmpFISTR Y-filer PCR Amplification Kit (Applied Biosystems, США) также продемонстрировал присутствие Y-хромосомы в останках древней ДНК Ботайского человека.

Таким образом, молекулярно-генетические данные свидетельствуют о мужском поле исследуемого индивида энеолитического периода с поселения Ботай. Данные антропологических исследований согласуются с полученными нами результатами молекулярно-генетического анализа.

Анализ аллелей STR-локусов Y-хромосомы. Аллельный профиль STR-локусов Y-хромосомы был использован нами не только в качестве одного из маркеров половой принадлежности костных останков, но и в качестве филогенетически и филогеографически информативного маркера. Использование специальных программ, выявляющих корреляцию между STR-профилями и филогенетическими кластерами Y-хромосомы позволяет определить филогенетическую принадлежность объекта. Полученный нами аллельный профиль по 17 STR-локусам (DYS390 - 24, DYS391-11, DYS392-13, DYS393 - 14, DYS19 - 15, DYS385 a/b - 17/18, DYS439 - 13, DYS389 I - 12, DYS389 II - 29, DYS448-23, DYS458 - 15, DYS437 - 15, GATA H4 - 11, DYS456 - 16, DYS438 - 13, DYS635 - 21) позволил определить принадлежность Y-хромосомы человека энеолитического периода с поселения Ботай к гаплогруппе O2 (вероятность по данным программы 27-Haplogroup Program составила 97.1%). Хотя гаплогруппа O2 Y-хромосомы не часто встречается в современных популяциях человека, она имеет особенности географического распределения. Гаплогруппа O2 встречается только в современных восточных евразийских популяциях. В отличие от родственной гаплогруппы O3, распространенной почти во всех популяциях Восточной Евразии, а также многих групп населения Океании, гаплогруппа O2, как правило, встречается только в некоторых "пограничных" популяциях, таких как австроазиатские племена Индии и Бангладеш, никобары из

Никобарских островов Индийского океана, корейцы, японцы, и тунгусские народы Северо-Восточной Азии [10].

В исследованной нами когорте современных казахов (767) O2 гаплотип (97% вероятности O2) определен только для 2-х человек (0,26%), относящихся к роду Найман-Байжигит из Восточно-Казахстанской области.

Для точного установления принадлежности исследуемого варианта Y-хромосомы к подгруппам гаплогруппы O2 нами планируется проведение дополнительного анализа его SNP-маркеров.

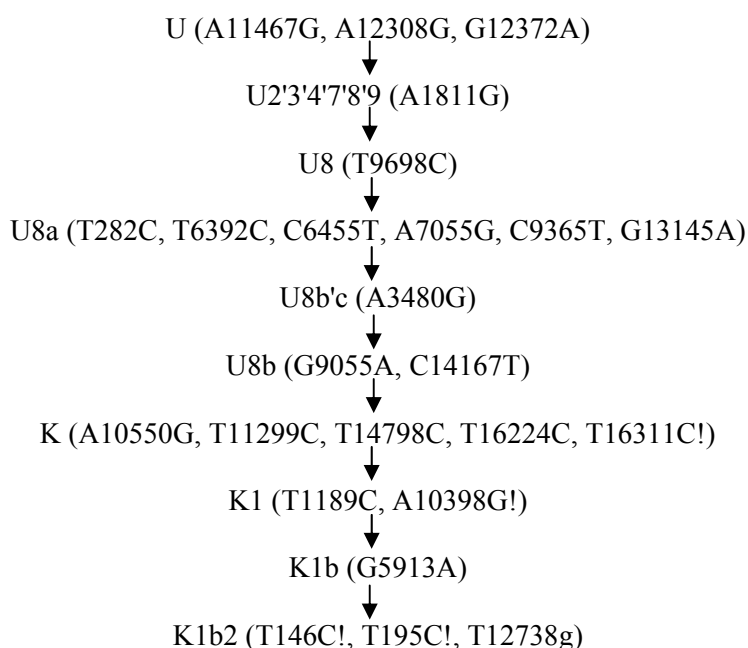
Сравнительный анализ результатов полного секвенирования палео-ДНК Ботайского человека, выделенного из разных источников

Референс. посл-ть		TU44 – зуб	TU45 – череп	Референс. посл-ть		TU44 – зуб	TU45 – череп	Референс. посл-ть		TU44 – зуб	TU45 – череп
1	G	Del	Del	5650	G		G/A	12382	A		G
4	C	T		5840	C		C/T	12401	C		C/T
11	C	Y(CT)		5908	G	A		12402	C		C/T
73	A	G	G	5913	G		A	12412	C		C/T
146	T	C	C	5955	C		C/T	12738	T	G	G
195	T	C	C	6140	C		C/T	12779	G		A
263	A	G		6889	G		G/A	12798	C		C/T
310	T		C	6967	G		G/A	12815	C		C/T
311	C		T	7028	C	T	T	13190	C		C/T
315	C		T	7286	T		T/C	13550	C		C/T
317	C		T	7582	C		C/T	13606	C		C/T
324	C		C/T	7590	C		C/T	13791	C		C/T
363-368d			Del	8175	C		C/T	13837	G		G/A
447			C/T	8195	C		C/T	13860	C		C/T
692			C/T	8206	G		G/A	14167	C	T	T
694	C		T	8407	C		C/T	14527	A		A/C
750	A	G	G	8847-8860d			Del	14629	C		C/T
1048	C		C/T	8860	A	G		14632	C		T
1050	C		C/T	8904	C		C/T	14766	C	T	T
1064	C		C/T	8907	C		C/T	14798	T	C	C
1079	G		G/A	8910	C		T	15058	C		C/T
1189	T	C	C	9055	G	A	A	15126	C		C/T
1285	G		G/A	9300	C	T	T	15127	C		T
1438	A	G	G	9553	G		A	15326	A	G	G
1811	A	G	G	9698	T	C		15374	G	A	
2706	A	G	G	9798	T		C	15392	G		G/A
2928	G		G/A	10398	A	G	G	15451	C		T
2955-2960d			Del	10503-10527d			Del	15811	C		C/T
2961	C		T	10542	C		C/T	16022-16042d			Del
2962	C		T	10550	A	G	G	16053	C		T
3421	G		G/A	11273	G		G/A	16095	C		C/T
3480	A	G	G	11274	G		G/A	16099	C		C/T
3569	C		T	11279	C		C/T	16213	G	A	A
3890	G		G/A	11299	T	C	C	16224	T		C
3901	G		G/A	11467	A	G	G	16311	T	C	C
4769	A	G	G	11719	G	A	A	16442	C		C/T
5093-5134d			Del	12263	C		C/T	16519	T	C	
5137	C		T	12265	C		C/T	16524	T		C
5138	C		C/T	12308	A	G	G	16543	G	R (AG)	
5475	C		C/T	12353-12361d			Del	16562-16569d		Del	
5485-5521d			Del	12372	G	A	A	16566-16569d			Del

Результаты анализа митохондриальной ДНК. Для уточнения митотипа было проведено полное секвенирование мтДНК Ботайского мужчины и установили следующие мутации и полиморфизмы при сравнении с референсной последовательностью [9, 10]: 1.Del(G), 4T, 11C/T, 73G, 146C, 195C, 263G, 750G, 1189C, 1438G, 1811G, 2706G, 3480G, 4769G, 5908A, 7028T, 8860G, 9055A, 9300T, 9698C, 10398G, 10550G, 11299C, 11467G, 11719A, 12308G, 12372A, 12738G, 14167T, 14766T, 14798C, 15326G, 15374A, 16213A, 16311C, 16519C, 16543A/G, 16562-16569d. Палео-ДНК, выделенная из зуба Ботайского человека давала однозначно повторяемые результаты, а ДНК из ткани черепа показывала выпадения нуклеотидов и дисморфии (таблица). Однако, в целом результаты не противоречат другу.

С помощью программного обеспечения Haplofind была определена гаплогруппа мтДНК неолитического человека с поселения Ботай: K1b2 гаплотип.

Филогения этого гаплотипа (ключевые мутации, определяющие происхождение гаплотипа мтДНК):



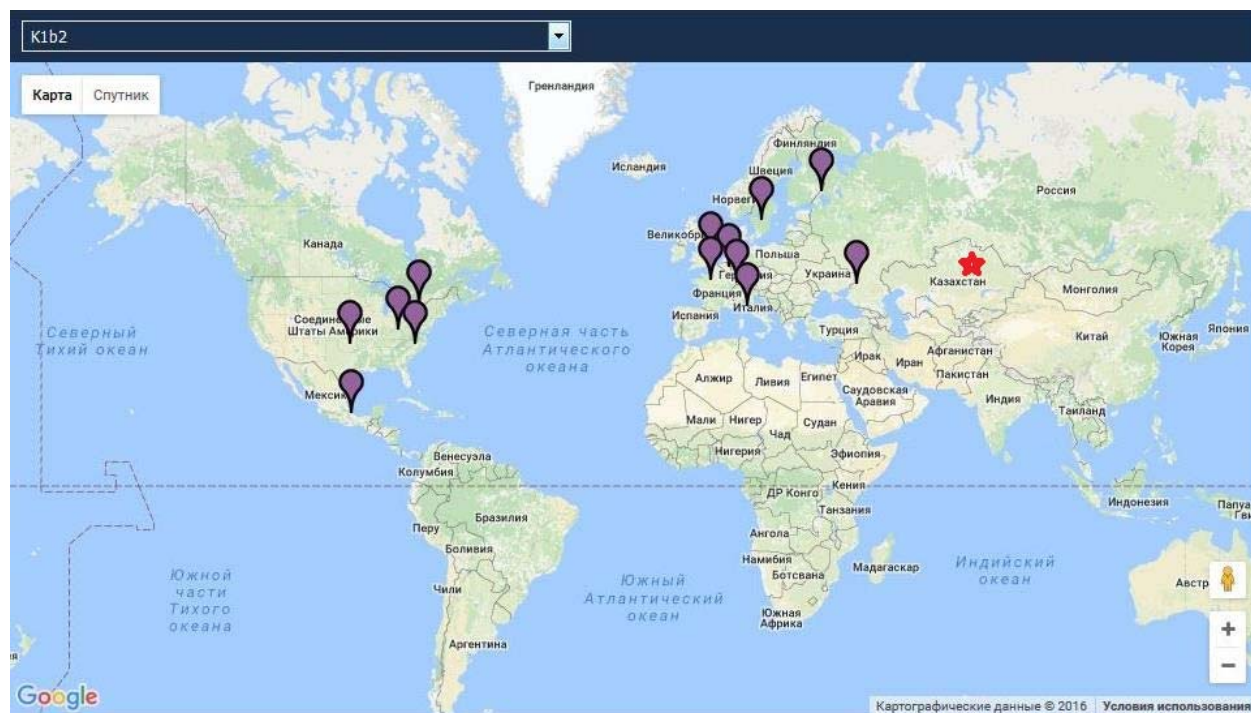
Все ключевые мутации, свидетельствующие о филогении K1b2 гаплотипа мтДНК присутствуют в определенном нами гаплотипе.

Согласно гипотезам, гаплогруппа K возникла в Западной Азии как субклад гаплогруппы U8b где-то 20 000 – 38 000 лет назад. Согласно анализу древних объектов с территории Европы, эта группа отсутствовала в популяциях охотников-собирателей (WHG), которые населяли Западную и Центральную Европу до неолитического периода. K1a, K1b и K2a субклады были найдены среди фермеров раннего неолита из Ближнего Востока и у ранних европейских популяций фермеров [11].

Интересно, что мутация A10398G, определяющая гаплогруппу K1 может быть связана с увеличением продолжительности жизни [12] и защищать от развития нервных болезней и психических расстройств, например от болезни Паркинсона [13], шизофрении, биполярного расстройства и большой депрессии. Эта мутация встречается также в субкладах K2a11.

Возраст гаплогруппы K1b2 оценивается в промежутке от 5 300 до 16 300 лет назад (10,791.5 ± 5,462.6; CI=95% [14]. Эта группа имеет 2 субклада, распространенных в настоящее время в Центральной и Северной Европе (K1b2a), а также в Западной континентальной Европе (K1b2b). На рисунке 5 показана встречаемость этой кланды мтДНК среди современного населения. Нашу находку мы отметили на карте звездочкой.

Исследования Березиной Г.М. с соавторами [15] показали частоту встречаемости гаплогруппы K среди современных казахов 2,6%. Сайт Family Tree DNA - Kz-DNA project представляет результаты анализа мтДНК 82 современных казахов. Среди них 2 человека демонстрируют наличие K гаплотипа и 1 человек - K1a4.



*Звездочкой помечено обнаружение данного гаплотипа у древних людей с территории Казахстана.

Рисунок 5 – Встречаемость гаплогруппы K1b2 среди современного населения (карта с сайта <http://www.familytreedna.com/public/...?section=mtmap>)

Наши исследования 100 человек, знающих свои материнские родословные, не показали наличия K группы среди обследованных современных казахов. Однако в литературе есть упоминания [16, 17] о низкой частоте встречаемости субкладов (K1b2a2b и K1b2a2*) этой группы у современных бурят и хамниган.

Таким образом, можно считать, что определение гаплогруппы K1b2 у древних людей с территории Центральной Евразии является первым свидетельством появления K1b2 гаплотипа в Центральной Евразии, на территории Северного Казахстана, откуда, возможно он имел широкое распространение на Запад (Европа) и незначительное – на Восток (Алтай).

Источник финансирования исследований. Работа была выполнена в рамках научного проекта «Изучение этногенетической истории населения Казахстана», финансируемого АО «Фонд Науки» на 2014–2016 гг.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Зайберт В.Ф. Исследования в Северном Казахстане // М.: Наука, 1981. С. 435–436.
- [2] Кисленко А.М. Раскопки поселения Рошинское // АО 1983. М.: Наука, 1984. С. 511.
- [3] Зайберт В.Ф. Сложение энеолитической ботайской культуры в Урало-Иртышском междуречье // Использование методов естественных и точных наук при изучении древней истории Западной Сибири. Барнаул: ИИФиФ: АлтГУ, 1983. С. 88–90.
- [4] Outram A.K., Stear N.A., Bendrey R., Olsen S., Kasparov A., Zaibert V., Thorpe N., Evershed R.P. The earliest horse harnessing and milking // Science. – 2009. – Vol. 323, Is. 5919. – P. 1332-1335. doi: 10.1126/science.1168594.
- [5] Зданович Г.Б., Зданович Д.Г. Протогородская цивилизация «Страна городов» Южного зауралья (опыт моделирующего отношения к древности) // Россия и Восток: Проблемы взаимодействия: материалы конференции. Ч.V. кн.1 – Челябинск, 1995. - С.48-65.
- [6] «AmpFISTR Yfiler PCR Amplification Kit», User’s Manual «Applied Biosystems», США, 2006.
- [7] Athey T.W. Haplogroup prediction from Y-STR values using an allele-frequency approach. // Journal of Genetic Genealogy. - 2005. - Vol.1. - P. 1 – 7.
- [8] Meyer, M. & Kircher, M. Illumina sequencing library preparation for highly multiplexed target capture and sequencing. Cold Spring Harb. Protoc. 2010, doi:10.1101/pdb.prot5448 (2010).

- [9] Hwan Young Lee, Injee Song, Eunho Ha, Sung-Bae Cho, Woo Ick Yang and Kyoung-Jin Shin. mtDNAMAN: a Web-based tool for the management and quality analysis of mitochondrial DNA control-region sequences // BMC Bioinformatics. 2008. Vol. 9, N. 483. doi: 10.1186/1471-2105-9-483.
- [10] <https://haplomaps.com/haplogroup-o2/>
- [11] Hofmanová Z., Kreutzer S., Hellenthal G. et al. Early farmers from across Europe directly descended from Neolithic Aegeans // PNAS. – 2016. doi: 10.1073/pnas.1523951113
- [12] Nijati M., Saidaming A., Qiao J. et al. GNB3, eNOS, and Mitochondrial DNA Polymorphisms Correlate to Natural Longevity in a Xinjiang Uygur Population // PLOSone. - 2013. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0081806>
- [13] Ghezzi D., Marelli C., Achilli A. et al. Mitochondrial DNA haplogroup K is associated with a lower risk of Parkinson's disease in Italians // European Journal of Human Genetics. – 2005. – Vol. 13. – P. 748–752. doi:10.1038/sj.ejhg.5201425
- [14] Behar D.M., van Oven M., Rosset S., Metspalu M., Loogväli E.L., Silva N.M., Kivisild T., Torroni A. and Villems R. A “Copernican” reassessment of the human mitochondrial DNA tree from its root. // American J. Human Genetics. 2012. Vol. 90, N. 4. P. 675-684.
- [15] Березина Г.М., Святова Г.С., Абдуллаева А.Ю Бермишева М., Кутуев И., Хуснутдинова Э.К., Биллернс Р. Полиморфизм митохондриальной ДНК в казахской популяции // Медицинская генетика. - 2005. – Т. 4, N 3. - С. 108-113.
- [16] Деренко М.В. и Мальярчук Б.А. Молекулярная филогеография населения северной Евразии по данным об изменчивости митохондриальной ДНК / отв. ред. И.А. Захаров-Гезехус. – Магадан: СВНЦ ДВО РАН. - 2010. – 376 с.
- [17] Derenko M. Malyarchuk B., Denisova G., Perkova M., Litvinov A., Grzybowski T., Dambueva I., Skonieczna K., Rogalla U., Tsybovsky I., Zakharov I. Western Eurasian ancestry in modern Siberians based on mitogenomic data // BMC Evolutionary Biology. – 2014. – Vol. 14. – P. 217. DOI: 10.1186/s12862-014-0217-9

REFERENCES

- [1] Zaibert V.F. Studies in Northern Kazakhstan // М.: Science, 1981. P. 435-436 (in Russ.).
- [2] Kislenko A.M. Excavations of the Roshinsky Settlement // JSC 1983. Moscow: Science, 1984. P. 511 (in Russ.).
- [3] Zaibert V.F. Creation of the Eneolithic Botay culture in the Ural-Irtysh interfluvium // Using the methods of natural and exact sciences in the study of the ancient history of Western Siberia. Barnaul: IIFiF: AltSU, 1983. P. 88-90 (in Russ.).
- [4] Outram A.K., Stear N.A., Bendrey R., Olsen S., Kasparov A., Zaibert V., Thorpe N., Evershed R.P. The earliest horse harnessing and milking // Science. – 2009. – Vol. 323, Is. 5919. – P. 1332-1335. doi: 10.1126/science.1168594.
- [5] Zdanovich G.B., Zdanovich D.G. Protogorodskaya civilization "Country of Cities" of the Southern Trans-Urals (the experience of a modeling relationship to antiquity) // Russia and the East: Problems of interaction: conference materials. Is. V. N.1 - Chelyabinsk, 1995. - P.48-65 (in Russ.).
- [6] «AmpFISTR Yfiler PCR Amplification Kit», User's Manual «Applied Biosystems», США, 2006.
- [7] Athey T.W. Haplogroup prediction from Y-STR values using an allele-frequency approach. // Journal of Genetic Genealogy. - 2005. - Vol.1. - P. 1 – 7.
- [8] Meyer, M. & Kircher, M. Illumina sequencing library preparation for highly multiplexed target capture and sequencing. Cold Spring Harb. Protoc. 2010, doi:10.1101/pdb.prot5448 (2010).
- [9] Hwan Young Lee, Injee Song, Eunho Ha, Sung-Bae Cho, Woo Ick Yang and Kyoung-Jin Shin. mtDNAMAN: a Web-based tool for the management and quality analysis of mitochondrial DNA control-region sequences // BMC Bioinformatics. 2008. Vol. 9, N. 483. doi: 10.1186/1471-2105-9-483.
- [10] <https://haplomaps.com/haplogroup-o2/>
- [11] Hofmanová Z., Kreutzer S., Hellenthal G. et al. Early farmers from across Europe directly descended from Neolithic Aegeans // PNAS. – 2016. doi: 10.1073/pnas.1523951113
- [12] Nijati M., Saidaming A., Qiao J. et al. GNB3, eNOS, and Mitochondrial DNA Polymorphisms Correlate to Natural Longevity in a Xinjiang Uygur Population // PLOSone. - 2013. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0081806>
- [13] Ghezzi D., Marelli C., Achilli A. et al. Mitochondrial DNA haplogroup K is associated with a lower risk of Parkinson's disease in Italians // European Journal of Human Genetics. – 2005. – Vol. 13. – P. 748–752. doi:10.1038/sj.ejhg.5201425
- [14] Behar D.M., van Oven M., Rosset S., Metspalu M., Loogväli E.L., Silva N.M., Kivisild T., Torroni A. and Villems R. A “Copernican” reassessment of the human mitochondrial DNA tree from its root. // American J. Human Genetics. 2012. Vol. 90, N. 4. P. 675-684.
- [15] Berezina G.M., Svyatova G.S., Abdullaeva A.Yu. Bermisheva M., Kutuev I., Khusnutdinova E.K., Billers R. Polymorphism of mitochondrial DNA in the Kazakh population // Medical genetics. - 2005. - Т. 4, N 3. - P. 108-113 (in Russ.).
- [16] Derenko M.V. And Malyarchuk B.A. Molecular phylogeography of the population of northern Eurasia according to the data on the variability of mitochondrial DNA / отв. Ed. I.A. Zakharov-Gezehous. - Magadan: The Research Center of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences. - 2010. - 376 p. (in Russ.).
- [17] Derenko M. Malyarchuk B., Denisova G., Perkova M., Litvinov A., Grzybowski T., Dambueva I., Skonieczna K., Rogalla U., Tsybovsky I., Zakharov I. Western Eurasian ancestry in modern Siberians based on mitogenomic data // BMC Evolutionary Biology. – 2014. – Vol. 14. – P. 217. DOI: 10.1186/s12862-014-0217-9

**Л. Б. Жансүгірова¹, В. Ф. Зайберг², Е. П. Китов³, О. А. Иксан¹, Нұржібек¹,
Г. С. Жүнісова¹, К. Б. Жантаева¹, Е. Б. Кузовлева¹, Э. М. Хусаинова¹**

¹ Жалпы генетика және цитология институты, Популяциялық генетика лабораториясы, Алматы, Қазақстан;

² Солтүстік Қазақстан облыстық мұражай бірлестігі, Петропавл, Қазақстан;

³ Ә.Марғұлан атындағы археология институты, Алматы, Қазақстан

ЭНЕОЛИТ КЕЗЕҢІНЕ ЖАТАТЫН БОТАЙ МЕКЕНІНЕН ТАБЫЛҒАН АДАМНЫҢ СҮЙЕК ҚАЛДЫҚТАРЫН ПАЛЕОГЕНЕТИКАЛЫҚ ЗЕРТТЕУ

Аннотация. Мақалада энеолит кезеңіне жататын адамдардың сүйек қалдықтарынан бөлініп алынған ДНҚ молекуласына Y-хромосомасы және митохондриялық ДНҚ маркерлерін қолдану арқылы молекулалық-генетикалық талдаулар жүргізілген. Y-хромосомасындағы DYZ1 қайталанбалы аймағына ПТР жүргізу арқылы зерттелген сүйек қалдықтарының ер адамға жататыны анықталды. Митохондриялық ДНҚ молекуласының құрылымын және Y-хромосомадағы STR-локустарының аллелдік жағдайын талдау арқылы алынған филогенетикалық мәліметтер келтірілген.

Түйін сөздер: палеогенетика, ескі ДНҚ, Y-хромосомадағы STR-маркерлер, митохондриялық ДНҚ.

Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

www.nauka-nanrk.kz

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

<http://www.biological-medical.kz/index.php/ru/>

Редактор *М. С. Ахметова, Д. С. Аленов, Т. М. Апендиев*
Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 27.07.2017.
Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
10,7 п.л. Тираж 300. Заказ 4.