

REVIEW OF A SCIENTIFIC CONSULTANT

on the dissertation work of Muslimova Zhadyra Umirbekkyzy on the topic: «DNA markers of resistance to mastitis in cows and methods of their identification», submitted for defense for the degree of Doctor of Philosophy (PhD) in the educational program 8D09101 - "Veterinary Medicine"

Currently, the search for DNA markers of resistance to diseases in farm animals, including the study of genetic factors of resistance to mastitis in cows, is an urgent problem in the world. At dairy enterprises, clinical and subclinical forms of mastitis in cows cause great economic damage as a result of decreased milk yield and technological properties of milk, the cost of treating sick animals, and premature culling of cows. Analysis of world literature shows that one of the significant risk factors for mastitis is genetic predisposition or, conversely, resistance to mastitis. SNP polymorphisms of the corresponding genes associated with resistance to mastitis are known, such as L-selectin, TLR6, MX1, CXCR1, BRCA1, MASP2, CATHL2, Lactoferrin. Usually, classical methods, polymerase chain reaction, and restriction fragment length polymorphism are used for genotyping SNP polymorphisms. In her dissertation work Muslimova Zh.U. used the PCR-RFLP analysis method for genotyping DNA samples of Holstein cows of foreign selection. Most authors claim that there is a reliable correlation associative connection between the alleles of the specified genes and the number of somatic cells in milk. In her dissertation work, another direction of research is determined: the number of somatic cells in 1 ml of milk and the study of the content of residual antibiotics in milk. The effectiveness of various methods of treating clinical and subclinical forms of mastitis in cows on dairy farms is studied.

The author of the dissertation conducted experimental work on the dairy farms of LLC «Amiran» and LLC «Baiserke-Agro» in Talgar district of Almaty region on cows of the Holstein breed of foreign selection with milk productivity of 8500-9000 kg of milk per lactation. Frozen blood samples with EDTA anticoagulant were used as material. Blood samples were taken from the jugular vein or, in some cases, from the tail vein. The dissertation work in the appendix contains a test protocol, which indicates the inventory of the animals studied and their genotypes.

The work was performed on a large sample, 200 DNA samples of cows of Bayserke-Agro LLC and 210 DNA samples of cows of Amiran LLC were used. Muslimova Zh. U. mastered modern molecular genetic methods of genotyping, DNA extraction using commercial kits, sample preparation, preparation of necessary solutions and buffers, 1xTAE, 1xTE, 0. M EDTA, different concentrations of agarose gel, preparation of solutions of working concentration of primers, dilution of dNTP mixture, preparation of working concentration of costomic primer solution, measurement of DNA concentration. The obtained good quality electrophoregrams of PCR products, electrophoregrams of the

amplification after restriction indicate high qualification of the author of the dissertation. It should be noted that the candidate for a degree conducted a large volume of research in the laboratory of «Green Biotechnology and Cell Engineering» of the Kazakh-Japanese Innovation Center of KazNAIU, which has all the necessary modern equipment. The scientific novelty of the dissertation work is the study of the occurrence of gene alleles at seven gene loci; for some gene loci, the absence of genetic polymorphism was revealed, which indicates the results of selection work carried out over a long period; a violation of gene equilibrium and an increase in the χ^2 value were detected. A large amount of work was carried out to study the effect of gene alleles on the incidence of clinical and subclinical mastitis in cows; for example, combined genotypes of 40 Holstein cows of Amiran LLC were identified by the PCR-RFLP analysis method, and subclinical mastitis diagnostics were carried out quarterly; a high risk of subclinical mastitis was found in animals with a combined CCCCCT genotype at the gene loci MX1 c.567 T> C, CXCR1 c.+291C> T, CXCR1 +1093C> T. Thus, the loci of the SELL, MX1, CXCR1 genes are potential DNA markers of resistance to subclinical mastitis in Holstein cows.

Evidence of the high level of scientific novelty of the dissertation work is the patents received for the invention of the RK, where methods for genotyping cows by the loci of the CXCR1, TLR6 genes were developed. Dissertation work of Muslimova Zh.U. was completed within the framework of the following research projects of the MNiVO RK: «Development of molecular genetic methods for detecting latent mutations in cattle and managing the process of eliminating hereditary anomalies», AR09057988, implementation period 2021-2023, «Creation of genetic passports and study of genetics of local Kazakhstani cattle breeds using genome resequencing» AR 19674808, implementation period 2023-2025, «Study of SNP polymorphisms in dairy cows associated with the content of somatic cells in milk» AR 22682970, project implementation period 2024-2026. Muslimova Zh.U. is also the responsible executor in three grant financing projects of the MNiVO RK and in one project of the PCF of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan. The analysis of the list of references of the author of the dissertation work shows that the results of the study were tested at various international conferences, May 2022 Olsztyn, Poland, May 2023 Kostanay, Republic of Kazakhstan, April 2023 Astana, Republic of Kazakhstan, September 2024 Semey, Republic of Kazakhstan, participant certificates are available.

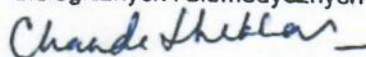
The dissertation work of Muslimova Zhadyra Umirbekkyzy consists of the following sections: introduction, literature review, materials and research methods, research results, discussion of the obtained results, conclusions and proposals for production, list of references. Muslimova Zh.U. published three articles in journals that are included in the Web of Science database: two articles in the journal «Reproduction in Domestic Animals», Q2 and one article in the journal «Animals», Q1. The dissertation work is illustrated with photographs, high-quality electrophoregrams, which reflect the results of experimental work on genotyping cows by the loci of the studied genes.

Personal contribution of the doctoral student. Doctoral student Muslimova Zh.U. took part in collecting blood samples as part of the implementation of scientific projects of the Ministry of Health and Higher Education of the Republic of Kazakhstan, is proficient in the technique of DNA extraction using commercial kits, performed horizontal electrophoresis, determined DNA quality by measuring the concentration of DNA samples, performed amplification, restriction and visualized the results of genotyping using the gel documentation system. On dairy farms, she carried out express diagnostics of clinical and subclinical mastitis in cows, identified cows with mastitis, developed treatment regimens for cows with mastitis, and studied the effectiveness of novocaine blockades using the method of D.D. Logvinov in acute forms of clinical mastitis. It should be noted that the combined use of novocaine blockade, oxytocin and frequent milking is especially effective in acute forms of catarrhal mastitis. Muslimova's dissertation is a completed research work on the study of SNP polymorphisms associated with the risk of mastitis in cows. Thus, the dissertation work of Muslimova Zhadyra Umirbekkyzy meets the requirements for doctoral dissertations in the educational program 8D09101 - "Veterinary Medicine" and the author of the work deserves to be awarded the degree of PhD.

Foreign scientific consultant
Professor

Chandra Pareek

Kierownik Projektu Badawczego
Genomika funkcjonalna w badaniach
biologicznych i biomedycznych


prof. dr hab. Chandra Pareek

Торун 7.04.2025

**Муслимова Жадыра Умирбеккызы 8D09101 «Ветеринариялық медицина»
білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми
дәрежесін алу үшін қорғауға ұсынылған «Сиырларда желінсауға
резистенттілік ДНҚ маркерлері және оларды идентификация жасау»
тақырыбындағы диссертациялық жұмысына**

ШЕТЕЛДІК ҒЫЛЫМИ КЕҢЕСШІСІНІҢ ПІКІРІ

Қазіргі уақытта әлемде ауыл шаруашылығы жануарларының ауруларға төзімділігінің ДНҚ маркерлерін іздеу, оның ішінде сиырлардың желінсауға төзімділігінің генетикалық факторларын зерттеу өзекті мәселе болып табылады. Сүт фермаларында сиырлардағы желінсаудың клиникалық және субклиникалық түрлері сүт өнімділігі мен сүттің технологиялық қасиеттерінің төмендеуі, ауру малды емдеуге кететін шығындар, сиырларды мерзімінен бұрын жою нәтижесінде үлкен экономикалық зиян келтіреді. Әлемдік әдебиеттерді талдау желінсауды маңызды қауіп факторларының бірі генетикалық бейімділік немесе, керісінше, желінсауға төзімділік екенін көрсетеді. L-selectin, TLR6, MX1, CXCR1, BRCA1, MASP2, CATHL2, Lactoferrin сияқты желінсауға төзімділікке байланысты сәйкес гендердің SNP полиморфизмдері белгілі. Әдетте, SNP полиморфизмдерін генотиптеу үшін классикалық әдістер, ПТР және шектеу фрагментінің ұзындығы полиморфизмі қолданылады. Диссертациялық жұмысында Муслимова Ж.У. шетелдік селекциядағы голштейн сиырларының ДНҚ үлгілерін генотиптеу үшін ПТР-РФҰП талдау әдісін қолданды. Көптеген авторлар осы гендердің аллельдері мен сүттегі соматикалық торшалар саны арасында сенімді корреляциялық байланыс бар деп мәлімдейді. Диссертациялық жұмыстың тағы бір зерттеу бағыты бар: 1 мл сүттегі соматикалық торшалармандың саны анықталып, сүттегі қалдық антибиотиктердің мөлшері зерттелді. Сүт фермаларында сиырлардағы клиникалық және субклиникалық желінсау түрлерін емдеудің әртүрлі әдістерінің тиімділігі зерттелді.

Диссертация авторы Алматы облысы Талғар ауданындағы «Амиран» ЖШС және «Байсерке-Агро» ЖШС сүт фермаларында лактация кезінде сүт өнімділігі 8500-9000 кг сүт өнімділігімен шетелдік селекциялық голштейндік сиырларға тәжірибелік-эксперименттік жұмыс жүргізді. Материал ретінде ЭДТА антикоагулянтты бар мұздатылған қан үлгілері пайдаланылды. Қан үлгілері мойын венасынан немесе кейбір жағдайларда құйрық венасынан алынды. Диссертациялық жұмыста қосымшада зерттелген жануарлардың тізімі және олардың генотиптері қамтылған сынақ хаттамасы бар.

Жұмыс үлкен үлгі бойынша жүргізілді; «Байсерке-Агро» ЖШС сиырларының 200 ДНҚ үлгісі және «Амиран» ЖШС 210 ДНҚ үлгісі пайдаланылды. Муслимова Ж.У. генотиптеудің заманауи молекулярлық-генетикалық әдістерін, коммерциялық жинақтарды пайдалана отырып ДНҚ-ны экстракциялауды, сынамаларды дайындауды, қажетті ерітінділер мен буферлерді дайындауды, 1xTAE, 1xTE, 0,М ЭДТА, әр түрлі концентрациядағы агарозды гельді, праймерлердің жұмыс концентрациясының ерітінділерін дайындауды, dNTP қоспасын сұйылтуды, костомиялық праймер ерітіндісінің жұмыс концентрациясын дайындауды, ДНҚ концентрациясын өлшеуді игерді. Алынған жоғары сапалы ПТР өнімдерінің электрофорограммалары және рестрикциямен кескеннен кейінгі

электрофорограммалары диссертациялық жұмыс авторының жоғары біліктілігін көрсетеді. Айта кету керек, докторант барлық қажетті заманауи жабдықтар бар ҚазҰАЗУ Қазақстан-Жапон инновациялық орталығының «Жасыл биотехнология және торшалық инженерия» зертханасында үлкен көлемдегі зерттеулер жүргізді. Диссертациялық жұмыстың ғылыми жаңалығы жеті гендік локустарда гендік аллельдердің пайда болуын зерттеу; кейбір гендік локустар үшін генетикалық полиморфизмнің жоқтығы анықталды, бұл ұзақ уақыт бойы жүргізілген селекциялық жұмыстардың нәтижелерін көрсетеді; гендік тепе-теңдіктің бұзылуы анықталды, χ^2 мәнінің жоғарылауы байқалды. Сиырлардың клиникалық және субклиникалық желінсаумен ауруына гендік аллельдердің әсерін зерттеу бойынша ауқымды жұмыстар жүргізілді. Мысалы, «Амиран» ЖШС 40 голштейн сиырының біріктірілген генотиптері ПТР-РФҰП талдауы арқылы анықталып, тоқсан сайын субклиникалық желінсау диагностикасы жүргізілді. Субклиникалық желінсау жоғары қаупі $MX1\ 567\ T>C$, $CXCR1\ +291C>T$, $CXCR1\ +1093C>T$ генінің локустары үшін біріктірілген CCCCCT генотипі бар жануарларда анықталды. Осылайша, SELL, MX1, CXCR1 гендерінің локустары голштейн сиырларындағы субклиникалық желінсауға төзімділіктің потенциалды ДНҚ маркерлері болып табылады.

Диссертациялық жұмыстың ғылыми жаңалығының жоғары деңгейінің дәлелі ретінде CXCR1 және TLR6 гендерінің локустары бойынша сиырларды генотиптеу әдістері жасалған ҚР өнертабысы үшін алынған патенттер бар екенін көруге болады. Диссертациялық жұмыс Муслимова Ж.У. Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің келесі ғылыми жобалары шеңберінде аяқталды: ИРН AP09057988 «Ірі қара малында жасырын генетикалық мутацияларды балау әдістерін ойлап табу және тұқымқуалайтын кемтарлықтарды жою үрдісін басқару» тақырыбы, (2021-2023 жж). ИРН AP19674808 «Толық геномдық секвенирлеуді пайдалану арқылы Қазақстандық жергілікті тұқымдық ірі қара малының генетикасын зерттеу және генетикалық паспорттарын жасау», (2023-2025 жж). ИРН AP22682970 «Сүт бағытындағы сиырларда, сүттің құрамындағы соматикалық торшалардың мөлшерімен байланысты SNP полиморфизмдерді зерттеу» жобаны іске асыру мерзімі 2024-2026 жж. Муслимова Ж.У. Сондай-ақ Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің үш гранттық қаржыландыру жобасында және Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігі қорының бір жобасында жауапты орындаушы болды. Диссертациялық жұмыс авторының пайдаланылған әдебиеттер тізімін талдау көрсеткендей, зерттеу нәтижелері әртүрлі халықаралық конференцияларда сынақтан өткен, 2022 жылдың мамыры Олыштын, Польша, мамыр 2023 ж. Қостанай, Қазақстан Республикасы, сәуір 2023 ж. Астана, Қазақстан Республикасы, 2024 жылғы қыркүйек, Қазақстан Республикасы, Семей қ., қатысушы сертификаттары бар.

Муслимова Жадыра Умирбекқызының диссертациялық жұмысы кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері, алынған нәтижелерді талқылау, қорытындылар мен өндіріске ұсыныстар, пайдаланылған әдебиеттер тізімі бөлімдерінен тұрады. Муслимова Ж.У. Web of Science дерекқорына кіретін журналдарда үш мақала жарияланды: екі мақала «Reproduction in Domestic Animals», Q2 және бір мақала «Animals», Q1. Диссертация зерттелетін гендердің локустары бойынша сиырларды генотиптеу бойынша тәжірибелік жұмыстардың нәтижелерін көрсететін фотосуреттермен және жоғары сапалы электрофорограммалармен безендірілген.

Докторанттың жеке үлесі. Докторант Муслимова Ж.У. ҚР Ғылым және жоғары білім министрлігі ғылыми жобаларын жүзеге асыру шеңберінде қан сынамаларын жинауға қатысты, коммерциялық жинақтарды пайдалана отырып ДНҚ экстракциясы әдісін меңгерген, көлденең электрофорез жүргізген, ДНҚ үлгілерінің концентрациясын өлшеу арқылы ДНҚ сапасын анықтаған, генотиптік құжаттау әдісін қолдану арқылы күшейту, шектеу және визуализация жүргізген. Сүт фермаларында сиырлардағы клиникалық және субклиникалық желінсау экспресс-диагностикасын жүргізді, желінсаумен ауыратын сиырларды анықтады, желінсаумен ауыратын сиырларды емдеу схемаларын және Д.Д. Логвинов әдісі клиникалық желінсау жедел түрінде әзірледі. Айта кету керек, новокаин блокадасын, окситоцинді және жиі саууды біріктіріп қолдану, әсіресе катаральды желінсаудың өткір түрінде тиімді. Муслимованың диссертациясы сиырлардағы желінсау қаупімен байланысты SNP полиморфизмдерін зерттеу бойынша аяқталған ғылыми жұмыс болып табылады. Сонымен, Муслимова Жадыра Умирбекқызының диссертациялық жұмысы 8D09101 – «Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы бойынша докторлық диссертацияларға қойылатын талаптарға сай келеді және жұмыс авторы PhD докторы дәрежесін беруге лайықты.

Шетелдік ғылыми кеңесші
Профессор

Chandra Pareek

Шетелдік ғылыми кеңесші:
Профессор Чандра Парик (Chandra Pareek)

*Мортабан: / Биологиялық және биомедициналық зерттеулердегі функционалдық геномика
зерттеу жобасының жетекшісі*

*/Қолы/
Профессор Чандра Парик /*