

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. Жұмыста қазіргі Қазақстан, Ресей және Қырғызстан аумағынан археологиялық материалдарды жинау, палео-ДНҚ бөліп алу және талдау туралы мәліметтер, ежелгі патогендік ағзалардың ДНҚ анықтау және ежелгі патогендердің филогенезі туралы мәліметтер берілген. Оба мен В гепатиті вирусының ежелгі штамдарына ерекше назар аударылады. Қауіпті инфекциялардың осы көне қоздырғыштары үшін эволюциялық, медициналық және экологиялық контексте *Yersinia pestis* және HBV штамдарының ДНҚ талдауының соңғы жетістіктері қорытындыланған.

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 штамдарының филогенетикалық талданып, инфекциялардың таралуы бойынша білуге мүмкін. Дегенмен, ежелгі ДНҚ талдауының күрделілігіне байланысты бүкіл әлемде палео-ДНҚ зертханаларының саны өте шектеулі. Бұл жұмыс Орталық Еуразия кеңістігінен, оның ішінде қазіргі Қазақстан аумағынан алынған археологиялық материалдардың ежелгі қоздырғыштарын тарихы контекстінде іс жүзінде зерттелмегендігімен ерекше өзекті болып табылады.

Зерттеудің мақсаты. Бұл жұмыстың мақсаты Орталық Еуразия аймағының қорымдарынан алынған адам қалдықтарының ДНҚ-сына

патогенді микроорганизмдер мен вирустардың ежелгі штамдарының болуына палеогенетикалық талдау жасау болды.

Мақсатқа жету үшін зерттеудің негізгі 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. Адам ауруларының, соның ішінде оба, туберкулез, қабыну және асқазан-ішек ауруларының белгілі қоздырғыштарына NGS деректерін биоинформатикалық скрининг жасау.

4. Маңызды патогенді ағзаларға қатысты биоинформатикалық скрининг нәтижелерін тексеру.

5. Ежелгі және қазіргі заманғы патогендердің геномдары туралы әлемдік деректер контекстінде адам патогендерінің ең маңызды ежелгі штамдарының геномдарын қайта құру және филогенетикалық талдау.

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

Зерттеу нысандары. Зерттеу объектілері біздің дәуірімізге дейінгі 7 ғасырдан біздің дәуіріміздің XIV ғасырға дейін аралықта 360 ежелгі адамның сүйек тіндері мен тіс үлгілері болды, оның 205-і қазіргі Қазақстан аумағынан, 120-сы Қырғызстаннан, 35-і Ресейден.

Зерттеу пәні. 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 штамдарының 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. Зерттеудің жаңалығы сонымен қатар Орталық Еуразия аймағының адам популяциясы арасында қола дәуірінен орта ғасырларға дейін айналымда жүрген *Yersinia*

pestis, Hepatitis B, Salmonella enterica және басқа да патогенді бактериялар мен вирустардың көне штамдарының болуын анықталған.

Сонымен, дүние жүзіндегі ғалымдардың үлкен тобымен бірлесе отырып, алғаш рет ~ 10500-ден ~ 400 жыл бұрын уақыт аралығындағы гепатит В вирусының эволюциялық тарихы ежелгі адамдарда анықталған (137 нысан).

Сондай-ақ Қызыл қорымынан алынған темір дәуіріне жататын үлгіде *Yersinia pestis* ежелгі штаммы және несториан зиратының 3 үлгісінен *Yersinia pestis* ортағасырлық штамдары 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 пайдаланылады. ғылымды танымал етуде.

Зерттеу нәтижелері «7М05115 – Биомедициналық инженерия» мамандығы бойынша «ІМКВ 5206» инженерлік молекулалық жасушалар биологиясы» пәнінің оқу бағдарламасына енгізілген. Әл-Фараби.

Осылайша, диссертацияның теориялық және практикалық маңызы бар.

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-ДНК 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.). Жануарлардан таралатын паразиттік аурулар, мысалы, гельминтоздар, сальмонеллездер, іш сүзегі, әртүрлі қорымдарды білдіретін жеке адамдарда байқалды. Венерологиялық аурулар жиі болған. В гепатиті (HBV), оба (*Yersinia pestis*), сальмонеллез (*Salmonella enterica*) сияқты қауіпті аурулар тек санаулы адамдарда байқалды.

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

4. Орталық Еуразия мен Еуропада *Yersinia 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 *yapC*), 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 *Yersinia pestis* ортағасырлық штамдары Еуропадағы екінші оба індетінің («Қара өлім») генетикалық прекурсорлары болып табылады. Филогения бұл штамдарды 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 әртүрлі мәдениеттер мен әртүрлі кезеңдердің өкілдері арасында көп және маңызды қоздырғыштардың тасымалдануы, сондай-ақ адам популяциясы геномының негізгі компоненттерін талдау Алтай тауларының көші-қон торабындағы ерекше маңыздылығын көрсетеді. Ежелгі халықтың Шығыс пен Батыстан Орталық Еуразия аймағына уақытпен белгіленген көші-қонының байлығын және әлеуметтік-экономикалық байланыстарын анықтайтын маршруттар HBV және *Yersinia pestis* сияқты ең маңызды 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 чиптерін 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 Illumina 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 және Scopus деректер базасына енгізілген беделді халықаралық ғылыми журналдардағы жарияланымдармен, БҒСБК ұсынған журналдармен ұсынылған және расталған. Нәтижелері институттың ғылыми семинарларында талқыланып, халықаралық және республикалық ғылыми конференцияларда баяндалған:

- Халықаралық ғылыми конференция 16-шы медициналық биокорғаныс конференциясы, Мюнхен, 2018 ж.;
- «Фараби әлемі» студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы, Алматы, Қазақстан, 2019 ж.;
- ISBA халықаралық ғылыми конференциясы, 1-4 маусым 2021 ж. (онлайн).

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 енгізілген халықаралық рецензияланған журналдарда (IF = 14,136; IF = 41,846, IF = 11.205, IF = 49.962) және ҚР БҒМ БҒСБК ұсынған журналдарда 3 мақала, Қазақстанда және шетелде өткен республикалық және халықаралық конференцияларда 2 тезис.

Дипломдық жұмыстың құрылымы. Диссертация 118 беттен тұрады және атаулар мен қысқартулардан, кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, материалдар мен зерттеу әдістерінен, нәтижелер мен оларды талқылаудан, қорытындылардан және 184 атаудан, оның ішінде 175 ағылшын тілінде пайдаланылған дереккөздер тізімінен тұрады. Жұмыста 29 сурет, 4 кесте және 9 қосымшасы бар.