

**Axmadaliyev Boburbek Jaxongir o'g'li**

O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental  
biologiyasi instituti katta ilmiy xodimi,  
b.f.f.d., (PhD), ahmadaliyev\_bobur@mail.ru

**Sherimbetov Anvar Gulmirzayevich**

O'zR FA Genetika va o'simliklar  
eksperimental biologiyasi instituti  
"Hayvonlar genetikasi" laboratoriyasi mudiri,  
b.f.d., professor, sher.anvar1981@gmail.com

**Adilov Baxtiyor Shuxratovich**

O'zR FA Genetika va o'simliklar  
eksperimental biologiyasi instituti  
bosh ilmiy xodimi, b.f.d.

**Ro'zmetov Dilshodbek Rustam o'g'li**

O'zR FA Genetika va o'simliklar eksperimental  
biologiyasi instituti katta ilmiy xodimi,  
b.f.f.d., (PhD).

**Abdikarimov Bobur Qurombayevich**

O'zR FA Genetika va o'simliklar  
eksperimental biologiyasi instituti  
kichik ilmiy xodimi

**Abduvaliyev Bobir Abdurashitovich**

O'zR FA Genetika va o'simliklar  
eksperimental biologiyasi instituti  
kichik ilmiy xodimi

**Aminjonov Habibjon Hayitvoy o'g'li**

O'zR FA Genetika va o'simliklar  
eksperimental biologiyasi instituti  
kichik ilmiy xodimi

**Primqulov Shahzod Xayrullayevich**

O'zR FA Genetika va o'simliklar  
eksperimental biologiyasi instituti  
kichik ilmiy xodimi

## **QORAMOL ZOTLARIDA CSN2 ( $\beta$ -KAZEIN) GENINING PZR USULIDA MOLEKULYAR BIOLOGIK TAHLILI**

**Annotatsiya:** Ushbu ilmiy tadqiqot ishida qoramollarning turli zotlarida  $\beta$ -kazein oqsilining sinteziga javobgar bo'lgan CSN2 genining polimorfizmlarini aniqlash hamda ushbu genning genetik o'zgaruvchanligini molekulyar darajada baholash maqsadida polimeraz zanjir reaksiyasi (PZR) usuli qo'llanildi. Tadqiqot doirasida Bushuyev, Simmental va Shvits zotiga mansub qoramollardan har bir zotdan 20 tadan qon namunasi olindi. Ushbu namunalardan DNK ajratilib, CSN2

genining spetsifik fragmentlari PZR yordamida amplifikatsiya qilindi. Amplifikatsiya qilingan mahsulotlar 1,5% agaroz gel elektroforezi orqali tahlil qilindi. Tahlil natijalariga ko'ra, barcha namunalar bo'yicha kerakli o'lchamdagi amplifikatsiya fragmentlari aniqlanib, PZR mahsulotlari mavjudligi tasdiqlandi. Amplifikatsiya qilingan fragmentlarning uzunligi taxminan 9000 juft nukleotid (bp) ni tashkil etdi. Tahlil natijalariga ko'ra, CSN2 genining kodlovchi qismlarida hamda promoter sohasida har qanday insertsiya-deletsiya (InDel) polimorfizmlar aniqlanmadi.

**Kalit so'zlar:** Beta-kazein, CSN2, DNK, Polimeraza Zanjiri Reaksiyasi (PZR), elektroforez, Bushuyev, Simmental, Shvits.

**Ахмадалиев Бобурбек Жахонгир ўғли**

Старший научный сотрудник Института  
генетики и экспериментальной биологии  
растений АН Узбекистан,  
кандидат биологических наук (PhD)

**Шеримбетов Анвар Гульмирзаевич**

Руководитель лаборатории «Генетика животных»,  
Институт генетики и экспериментальной  
биологии растений АН Узбекистана,  
Доктор биологических наук, профессор,

**Адилов Бахтиёр Шухратович**

Главный научный сотрудник  
Институт генетики и экспериментальной  
биологии растений АН Узбекистана,  
Доктор биологических наук,

**Рузметов Дилшодбек Рустам угли**

Старший научный сотрудник Института  
генетики и экспериментальной биологии  
растений АН Узбекистан,  
кандидат биологических наук (PhD)

**Абдикаримов Бобур Куромбаевич**

Младший научный сотрудник Институт  
генетики и экспериментальной биологии растений  
АН Узбекистана.

**Абдувалиев Бобир Абдурашитович**

Младший научный сотрудник Институт  
генетики и экспериментальной биологии растений  
АН Узбекистана.

**Аминжанов Хабибжон Хаитвой угли**

Младший научный сотрудник Институт

генетики и экспериментальной биологии растений  
АН Узбекистана.

**Примкулов Шахзод Хайруллаевич**

Младший научный сотрудник Институт  
генетики и экспериментальной биологии растений  
АН Узбекистана.

## **МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА CSN2 (β-КАЗЕИН) В ПОРОДАХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ПЦР**

**Аннотация:** В данном научном исследовании с целью выявления полиморфизмов гена CSN2, ответственного за синтез β-казеина у крупного рогатого скота различных пород, а также для оценки генетической изменчивости этого гена на молекулярном уровне, был использован метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). В рамках исследования были отобраны образцы крови от животных пород Бушувская, Симментальская и Швицкая, по 20 особей от каждой породы. Из полученных образцов крови была экстрагирована ДНК, после чего с использованием метода ПЦР были амплифицированы специфические фрагменты гена CSN2. Амплифицированные продукты подвергались анализу посредством электрофореза в 1,5% агарозном геле. По результатам анализа во всех образцах были выявлены амплифицированные фрагменты требуемого размера, что подтвердило успешное проведение ПЦР. Длина амплифицированных фрагментов составила приблизительно 9000 пар нуклеотидов (п.н.). На основании полученных данных было установлено, что в кодирующих участках и промоторной области гена CSN2 инсерционно-делеционные (InDel) полиморфизмы не обнаружены.

**Ключевые слова:** Бета-казеин, CSN2, ДНК, полимеразная цепная реакция (ПЦР), электрофорез, порода, Бушувская, Симментальская, Швицкая.

**Akhmadaliev Boburbek Jakhongir ugli**

Senior Researcher at the Institute of  
Genetics and Experimental Plant Biology,  
Uzbekistan Academy of Sciences, PhD in Biology,

**Sherimbetov Anvar Gulmirzayevich**

Head of the “Animal Genetics” Laboratory,  
Institute of Genetics and Experimental Plant Biology,  
Uzbekistan Academy of Sciences,  
Doctor of Biological Sciences, Professor,

**Adilov Bakhtiyor Shukhratovich**

Lead Scientist at the Institute of  
Genetics and Experimental Plant Biology,  
Uzbekistan Academy of Sciences,  
Doctor of Biological Sciences,

**Ruzmetov Dilshodbek Rustam ugli**

Senior Researcher at the Institute of  
Genetics and Experimental Plant Biology,  
Uzbekistan Academy of Sciences, PhD in Biology,

**Abdikarimov Bobur Qurombayevich**

Junior Researcher at the Institute of  
Genetics and Experimental Plant Biology,  
Uzbekistan Academy of Sciences,

**Abduvaliev Bobir Abdurashitovich**

Junior Researcher at the Institute of  
Genetics and Experimental Plant Biology,  
Uzbekistan Academy of Sciences.

**Aminjonov Khabibjon Khayitvoy ugli**

Junior Researcher at the Institute of  
Genetics and Experimental Plant Biology,  
Uzbekistan Academy of Sciences.

**Primqulov Shakhzod Khayrullayevich**

Junior Researcher at the Institute of  
Genetics and Experimental Plant Biology,  
Uzbekistan Academy of Sciences.

## **MOLECULAR BIOLOGICAL ANALYSIS OF THE CSN2 ( $\beta$ -CASEIN) GENE IN CATTLE BREEDS USING THE PCR METHOD**

**Abstract:** *In this scientific study, the polymerase chain reaction (PCR) method was applied to identify polymorphisms in the CSN2 gene, which is responsible for the synthesis of  $\beta$ -casein protein in cattle of different breeds, and to assess the genetic variability of this gene at the molecular level. As part of the research, blood samples were collected from cattle of the Bushuev, Simmental, and Swiss breeds, with 20 samples taken from each breed. DNA was extracted from these samples, and specific fragments of the CSN2 gene were amplified using*

*PCR. The amplified products were analyzed by 1.5% agarose gel electrophoresis. According to the results of the analysis, amplification fragments of the expected size were detected in all samples, confirming the presence of PCR products. The length of the amplified fragments was approximately 9000 base pairs (bp). Based on the obtained data, no insertion-deletion (InDel) polymorphisms were identified in the coding regions or promoter region of the CSN2 gene.*

**Key words:** *Beta-casein, CSN2, DNA, polymerase chain reaction (PCR), electrophoresis, breed, Bushuev, Simmental, Swiss.*

**Kirish.** Qoramolchilik sohasining O‘zbekiston Respublikasi chorvachilik tizimida tutgan o‘rni alohida ahamiyatga ega bo‘lib, uning rivojlanishi oziq-ovqat xavfsizligini ta‘minlashda muhim rol o‘ynaydi. Bugungi kunda, dunyo bo‘yicha qoramol mahsulotlariga bo‘lgan talab va ehtiyojning yil sayin ortishi, ushbu soha ahamiyatini yanada oshirib bormoqda. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 18-martda qabul qilgan “Chorvachilik tarmog‘ini yanada rivojlantirish va qo‘llab-quvvatlash chora-tadbirlari to‘g‘risida”gi PQ-4243-sonli, 2020-yil 29-yanvarda e‘lon qilingan “Chorvachilik tarmog‘ini davlat tomonidan qo‘llab-quvvatlashning qo‘shimcha chora-tadbirlari to‘g‘risida”gi PQ-4576-sonli qarorlari hamda keyinchalik chiqarilgan bir qator yangi farmon va qarorlar mamlakatda chorvachilikni rivojlantirishning asosiy strategik hujjatlari bo‘lib, bu sohadagi ilg‘or texnologiyalarni joriy etishga xizmat qilmoqda [1, 2].

**Adabiyotlar tahlili.** Qoramollarda molekulyar-genetik tadqiqotlar o‘tkazish orqali har bir hayvonning DNKsini ajratib olish, genotiplash, shuningdek, insertsiya-deletsiya (InDel) va SNP (*single nucleotide polymorphism* - yagona nukleotidli polimorfizm) polimorfizmlarini tahlil qilish imkoniyatlari mavjud. Bunday tadqiqotlar, ayniqsa, sut mahsuldorligiga bevosita ta‘sir ko‘rsatadigan genlar, masalan, CSN3 - kappa-kazein, A1/A2- CSN2  $\beta$ -kazein, LAG - laktoglobulin, BLG - beta-laktoglobulin, PRL - prolaktin va GH - o‘sish gormoni kabi genlar o‘zgarishlarini aniqlash imkonini beradi. Bu genlarning ayrim allellari va ularning kombinatsiyalari (gaplotiplar) sut va boshqa mahsuldorlik parametrlariga ta‘sir ko‘rsatishi mumkin. Genetik tahlillar, shuningdek,

hayvonlarning nasl ko'rsatkichlarini erta prognozlashda, seleksiya va naslchilik ishlarining samaradorligini oshirishda muhim ahamiyatga ega. Shu bilan birga, ushbu tadqiqotlar poda mahsuldorligini yillik 50 foizgacha oshirish imkoniyatini yaratadi va seleksiya jarayonini tezlashtiradi [3].

Sigir suti inson ratsionining asosiy qismi bo'lib, uning tarkibida proteinlar, uglevodlar, minerallar va vitaminlar mavjud. Sut tarkibidagi oqsillar, jumladan kazeinlar, inson organizmi uchun zarur bo'lgan aminokislotalarning muhim manbalaridan biridir. Kazeinlar bir necha turga bo'linadi, ulardan biri — beta-kazein (CSN2), sutning asosiy oqsil komponentlaridan hisoblanadi. Beta-kazeinning genetik variantlari, xususan, A1 va A2 turlari sut tarkibidagi kazein miqdori va sifatiga bevosita ta'sir ko'rsatadi. Beta-kazein umumiy sigir suti oqsilining 25-30% ini tashkil qiladi va u qoramol genomining oltinchi xromosomasida joylashgan to'rtta kazein geni klasteriga kiradi [4]. Hozirgi kunda beta-kazeinning 12 genetik varianti ma'lum: A1, A2, A3, B, C, D, E, F, H1, H2, I, G, va bu variantlar orasida A1 va A2 turlari eng keng tarqalgan [5].

Qishloq xo'jaligi hayvonlarida iqtisodiy ahamiyatga ega bo'lgan genetik belgilarning aniqlanishi so'nggi yillarda ilmiy tadqiqotlar markazida bo'lib, bu belgilarning seleksiya jarayonida qo'llanilishi mavjud zotlarning mahsuldorligini sezilarli darajada oshirishi mumkin. Bushuyev, Simmental va Shvits zotlari O'zbekistonda keng tarqalgan qoramol zotlari hisoblanadi. Shu sababli, mazkur tadqiqot O'zbekiston qoramollari populyatsiyasida beta-kazein (CSN2) genida va uning promoter regionida insertsiya-deletsiya (InDel) polimorfizmlarini, shuningdek, CSN2 genida SNP polimorfizmlarini o'rganishga qaratilgan.

### **Material va ish uslublari.**

**Namunalar yig'ish.** Qon namunalari steril shpirtsalar bilan bo'yin va dum venasidan har bir hayvondan 5 ml dan olindi va antikoagulyant (EDTA) bo'lgan vakumli probirkalarga solindi [6]. EDTA (etilendiamin sirka kislota) kalsiy ionlarini bog'laydi, barqaror komplekslar hosil qiladi va qon ivishini oldini oladi. Namunalar laboratoriyaga olib borilayotganda portativ muzlatgichda saqlandi va laboratoriyaga keltirildi.

**Qon namunalardan DNK ajratish.** Qoramol qon namunalaridan DNKni ajratish uchun «GeneJET Genomic DNA Purification Kit» to‘plami reagentlaridan (Thermo Fisher USA) ishlab chiqaruvchining protokoliga muvofiq foydalanildi. Yig‘ilgan qon namunalaridan genomik DNKni ajratish quyidagi tartibda amalga oshirildi:

1) 200 mkl qonga 400 mkl Lizis eritmasi va 20 mkl Proteinaza K fermenti qo‘shilib, gomogen suspenziya hosil qilish uchun vorteks yordamida yaxshilab aralashtirildi. Bu jarayon, qon namunalarining to‘liq lizis bo‘lishini ta‘minlash va ularni keyingi tahlillar uchun muhim bosqich hisoblanadi.

2) Namunalar 56°C haroratda 10 daqiqa davomida termoblotda inkubatsiya qilinib, shu vaqt ichida hujayralar to‘liq parchalanishi uchun vaqti-vaqti bilan vorteks qilindi. Bu jarayon hujayralarning lizisini to‘liq amalga oshirishi va keyingi DNK ajratish jarayoniga tayyorlanishini ta‘minlaydi.

3) 200 µl (96–100%) etanol eritmasi qo‘shildi va keyin namunani gomogenizatsiya qilish uchun pipetka yordamida ehtiyotkorlik bilan aralashtirildi shuningdek, aralashtirish samaradorligini oshirish maqsadida vorteks (Vortex mikser MX-S) qurilmasidan foydalanildi.

4) Tayyorlangan aralashma spin-kolonkaga o‘tkazildi. Spin-kolonka 6000 × g tezlikda 1 daqiqa davomida sentrifugalandi. Hosil bo‘lgan eritma yig‘ish probirkasidan ehtiyotkorlik bilan chiqarib tashlandi, so‘ng spin-kolonka yana bo‘sh probirkaga joylashtirildi. Keyinchalik, GeneJET™ genomik DNKni tozalash ustuni (filtrli qism) yangi, 2 ml hajmdagi yig‘ish probirkasiga ehtiyotkorlik bilan ko‘chirildi.

5) Spin-kolonkaga 500 µl miqdorida 1-yuvish buferi (Wash Buffer I) qo‘shildi va namunani tozalash jarayonini davom ettirish maqsadida 8000×g tezlikda 1 daqiqa davomida sentrifugalandi. Sentrifugadan so‘ng pastki qismda to‘plangan suyuqlik ehtiyotkorlik bilan chiqarib tashlandi va spin-kolonka yana yig‘ish probirkasiga joylashtirildi.

6) Spin-kolonka ustiga 2-yuvish buferi (Wash Buffer II) qo'shildi va qolgan aralashmalarni to'liq chiqarib tashlash maqsadida namunalar  $\geq 12,000 \times g$  tezlikda 3 daqiqa davomida sentrifugalandi.

7) Sentrifugadan so'ng eritmani (suyuqlikni) o'z ichiga olgan yig'ish probirkasi utilizatsiya qilindi (tashlab yuborildi). Shundan so'ng, spin-kolonka steril 1,5 ml hajmdagi Eppendorf mikroprobirkasiga ehtiyotkorlik bilan ko'chirildi.

8) Genomik DNKni elutsiya qilish maqsadida, spin-kolonka membranasining markaziy qismiga 200  $\mu$ l elutsiya buferi (Elution Buffer) ehtiyotkorlik bilan qo'shildi. Namuna xona haroratida 2 daqiqa davomida inkubatsiya qilindi, so'ngra DNKni maksimal miqdorda ajratib olish uchun  $8000 \times g$  tezlikda 1 daqiqa davomida sentrifugalab umumiy DNK ajratib olindi.

Ajratib olingan DNK namunalariga polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) o'tkazildi. Ushbu jarayon *Beta-kazein* (CSN2) geniga maxsus dizayn qilingan spetsifik praymerlar va Thermo Fisher Scientific (AQSH) kompaniyasi tomonidan ishlab chiqarilgan "Platinum™ SuperFi™ DNA Polymerase" reaktivlar to'plamidan foydalangan holda amalga oshirildi (1-jadval). PZR jarayoni Thermo Fisher Scientific kompaniyasining MiniAmp™ Plus DNK amplifikatori yordamida bajarildi.

#### 1-jadval

1 ta DNK namunasiga PZR o'tkazish uchun sarflangan komponentlar

| No | Komponentlar                                     | Miqdor, $\mu$ L             |
|----|--------------------------------------------------|-----------------------------|
| 1  | ddH <sub>2</sub> O                               | 13,35 $\mu$ L               |
| 2  | 5X SuperFi™ Buffer                               | 5 $\mu$ L                   |
| 3  | 10 mM dNTPs                                      | 0.4 $\mu$ L                 |
| 4  | 10 $\mu$ M forward primer                        | 1 $\mu$ L                   |
| 5  | 10 $\mu$ M reverse primer                        | 1 $\mu$ L                   |
| 6  | Platinum™ SuperFi™ DNA Polymerase (2 U/ $\mu$ L) | 0.25 $\mu$ L                |
| 7  | DNA                                              | 4 $\mu$ L                   |
|    | <b>Umumiy hajm:</b>                              | <b>25 <math>\mu</math>L</b> |

#### Olingan natijalar va ularning tahlili.

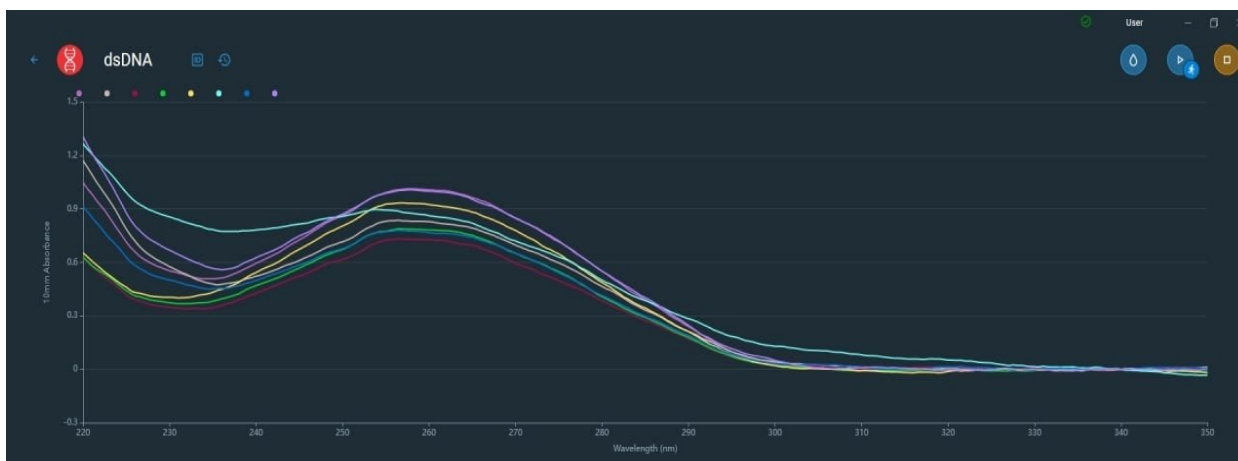
Mazkur tadqiqotda Toshkent viloyati Bo'ka tumanidagi "Bo'ka shirin sut" chorvachilik xo'jaligidan Shvits zoti, "Bo'ston chorvador" fermasidan Simmental

zoti hamda Sirdaryo viloyatidagi “Orol ne’matlari” fermer xo‘jaligida boqilayotgan Bushuyev zotli qoramollar tadqiqot obyekti sifatida tanlab olindi. Har bir zotdan 20 boshdan, jami 60 bosh qoramoldan biologik material - qon namunasi - laboratoriya tahlillar uchun olindi (1-rasm). Tajriba davomida barcha hayvonlar sog‘lig‘i barqaror bo‘lib, klinik belgilar asosida salomatlik holati qoniqarli deb baholandi. Ushbu holat tadqiqot natijalarining ishonchliligini ta’minlashda muhim omil bo‘lib xizmat qildi.



**1-rasm.** Qoramolning turli zotlaridan qon olish jarayoni

Yig‘ilgan qon namunalarida DNK ajratildi va ajratib olingan DNK namunalarining konsentratsiyasi va tozaligi NanoDrop Eight spektrofotometri yordamida aniqlandi (2-rasm).



**2-rasm.** Ajratilgan DNK namunalarining spektrofotometrik tahlili

DNK namunalarining tozalik darajasini baholashda 260 nm va 280 nm to‘lqin uzunliklaridagi optik nur yutish ko‘rsatkichlari asosida hisoblangan  $A_{260}/A_{280}$  nisbatidan foydalanildi (2-jadval). Ushbu nisbat DNK namunalarida oqsillar yoki boshqa ifloslantiruvchi moddalar mavjudligini aniqlash uchun muhim parametr hisoblanadi. Toza DNK uchun  $A_{260}/A_{280}$  nisbatining optimal qiymati taxminan 1.8 atrofida bo‘lishi kerak. Agar bu nisbat 1.8 dan past bo‘lsa, bu oqsil yoki fenol aralashmasining mavjudligidan dalolat beradi; aksincha, 2.0 dan yuqori qiymatlar RNK bilan ifloslanishini ko‘rsatishi mumkin [7].

**2-jadval**

DNK namunalarining konsentratsiyasi

| <b>“Bo‘ka shirin sut” Toshkent viloyati Shvits qoramol zoti</b> |              |              |                 |
|-----------------------------------------------------------------|--------------|--------------|-----------------|
| <b>No</b>                                                       | <b>Jinsi</b> | <b>ng/μl</b> | <b>A260/280</b> |
| 1                                                               | ♀            | 48.9         | 1.92            |
| 2                                                               | ♀            | 76.7         | 1.89            |
| 3                                                               | ♀            | 50.4         | 1.83            |
| 4                                                               | ♀            | 41.4         | 1.78            |
| 5                                                               | ♀            | 36.4         | 1.90            |
| 6                                                               | ♀            | 39.1         | 1.92            |
| 7                                                               | ♀            | 46.2         | 1.90            |
| 8                                                               | ♀            | 43.1         | 1.72            |
| 9                                                               | ♀            | 38.3         | 1.85            |
| 10                                                              | ♀            | 50.0         | 1.82            |
| 11                                                              | ♀            | 38.5         | 1.82            |
| 12                                                              | ♀            | 45.1         | 1.83            |
| 13                                                              | ♀            | 42.0         | 1.80            |
| 14                                                              | ♀            | 26.1         | 1.95            |
| 15                                                              | ♀            | 31.7         | 1.78            |
| 16                                                              | ♀            | 41.8         | 1.85            |
| 17                                                              | ♀            | 53.1         | 1.83            |

|                                                |              |              |                 |
|------------------------------------------------|--------------|--------------|-----------------|
| 18                                             | ♀            | 52.9         | 1.90            |
| 19                                             | ♀            | 34.7         | 1.84            |
| 20                                             | ♀            | 10.6         | 1.58            |
| <b>“Bo’ston chorvador” f/x. Simmental zoti</b> |              |              |                 |
| <b>№</b>                                       | <b>Jinsi</b> | <b>ng/µl</b> | <b>A260/280</b> |
| 21                                             | ♀            | 10.7         | 1.78            |
| 22                                             | ♂            | 18.2         | 1.66            |
| 23                                             | ♂            | 16.2         | 1.72            |
| 24                                             | ♀            | 8.4          | 1.68            |
| 25                                             | ♂            | 23.9         | 1.94            |
| 26                                             | ♀            | 5.6          | 1.65            |
| 27                                             | ♀            | 8.9          | 1.81            |
| 28                                             | ♀            | 10.8         | 1.88            |
| 29                                             | ♀            | 14.9         | 1.78            |
| 30                                             | ♀            | 12.1         | 1.82            |
| 31                                             | ♀            | 13.5         | 1.72            |
| 32                                             | ♀            | 13.9         | 1.66            |
| 33                                             | ♀            | 16.2         | 1.79            |
| 34                                             | ♀            | 13.4         | 1.75            |
| 35                                             | ♀            | 8.4          | 1.59            |
| 36                                             | ♀            | 18.4         | 1.74            |
| 37                                             | ♀            | 9.7          | 2.05            |
| 38                                             | ♀            | 18.3         | 1.75            |
| 39                                             | ♀            | 11.3         | 1.52            |
| 40                                             | ♀            | 13.6         | 1.67            |
| <b>“Orol ne’matlari” f/x. Bushuyev zoti</b>    |              |              |                 |
| <b>№</b>                                       | <b>Jinsi</b> | <b>ng/µl</b> | <b>A260/280</b> |
| 41                                             | ♀            | 10.7         | 1.86            |
| 42                                             | ♀            | 10.6         | 2.10            |
| 43                                             | ♀            | 12.2         | 1.71            |
| 44                                             | ♀            | 10.4         | 1.77            |
| 45                                             | ♀            | 15.9         | 1.87            |
| 46                                             | ♀            | 13.4         | 1.76            |
| 47                                             | ♀            | 7.6          | 1.81            |
| 48                                             | ♀            | 8.8          | 1.72            |
| 49                                             | ♀            | 20.0         | 1.82            |
| 50                                             | ♀            | 7.7          | 1.87            |
| 51                                             | ♀            | 13.2         | 2.03            |
| 52                                             | ♀            | 28.2         | 1.79            |
| 53                                             | ♀            | 11.0         | 1.92            |
| 54                                             | ♀            | 18.7         | 1.93            |
| 55                                             | ♀            | 46.8         | 1.90            |
| 56                                             | ♀            | 28.2         | 1.79            |
| 57                                             | ♀            | 11.0         | 1.92            |
| 58                                             | ♀            | 18.7         | 1.93            |
| 59                                             | ♀            | 46.8         | 1.90            |
| 60                                             | ♀            | 10.7         | 1.86            |

Qon namunalaridan ajratilgan DNK namunalariga PZR o'tkazish uchun maxsus praymerlar tanlab olindi. Buning uchun CSN2 geni sinteziga mos spetsifik praymer ketma-ketliklari NCBI ma'lumotlar bazasiga kiritilgan genom ketma-ketliklari asosida ishlab chiqildi. CSN2 geniga xos nukleotidlar ketma-ketligi universal nukleotidlar "alignment software" dasturidan foydalangan holda aniqlandi va praymerlar "Primer-3" dasturi yordamida ishlab chiqildi (3-rasm).

Pair 2:

☒ Left Primer 2:

Sequence:

Start: 60    Length: 20 bp    Tm: 59.7 °C    GC: 60.0 %    ANY: 4.0    SELF: 2.0

☒ Right Primer 2:

Sequence:

Start: 8981    Length: 22 bp    Tm: 60.1 °C    GC: 50.0 %    ANY: 2.0    SELF: 0.0

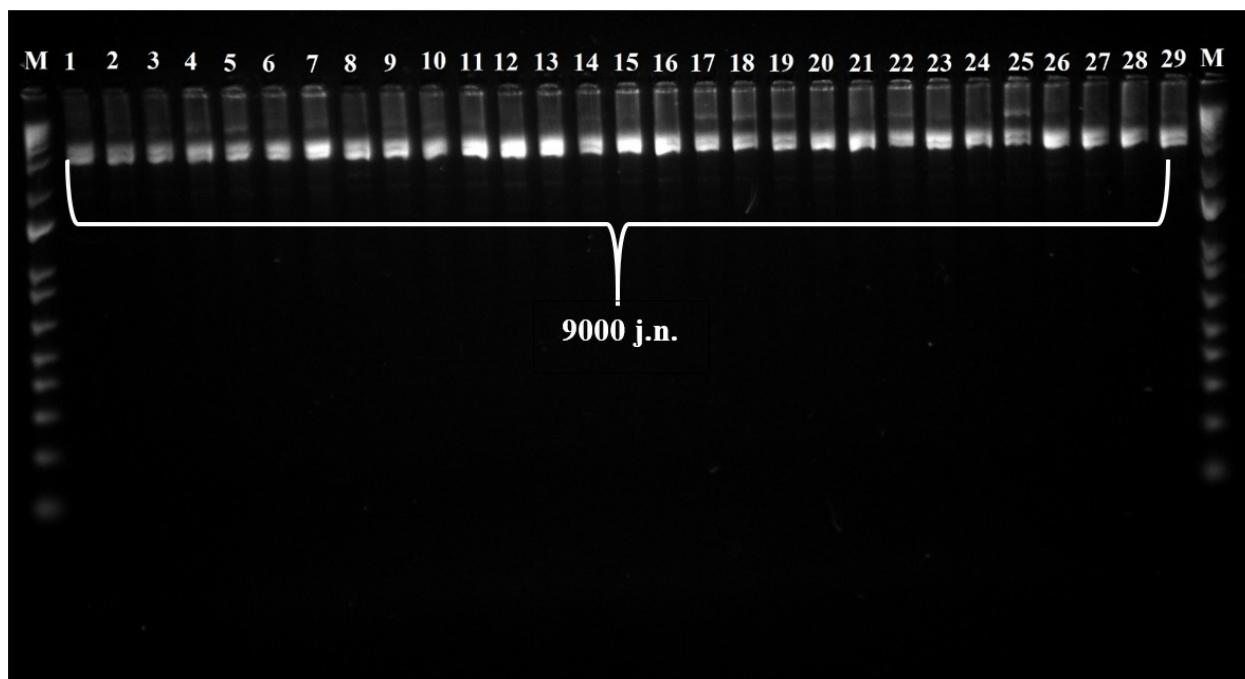
Product Size: 8922 bp    Pair Any: 3.0    Pair End: 2.0

**3-rasm.** "Primer-3" dasturi yordamida ishlab chiqilgan praymerlar va ularning tavsifi

Praymer ketma-ketligining o'ziga xosligi NCBI ma'lumotlar bazasi tomonidan taqdim etilgan Basic Local Alignment Search Tool yordamida onlayn ravishda tekshirildi. Forward praymer: 5'-GTCCCAGCCAAGGTCTGTAG-3'; reverse praymer esa: 5'-GCTCACCCTATCTTTCCCTCT-3' qilib tanlangan. Tadqiqotlar davomida foydalanilgan praymerlar "Integrated DNA Technologies" (Belgiya) kompaniyasi tomonidan sintez qilingan.

Tadqiqotlar davomida ishlab chiqilgan spetsifik praymerlardan foydalanib PZR o'tkazildi. Olingan PZR mahsulotlari 1xTBE buferli (pH=8,3) 1,5% agaroz gelida gel elektroforezi usuli bilan tahlil qilindi. Gel elektroforezini amalga oshirish uchun 0,5 mkg/ml etidiy bromid eritmasi (EtBr) bilan bo'yash usuli qo'llanildi. Etidiy bromid (EtBr) UV nurlanishi yordamida gelda DNAning mavjudligini vizualizatsiya qilish uchun ishlatiladi, chunki EtBr nafaqat kovalent bog'lanish bilan DNi tanlaydi, balki UV nurlanishi ostida floresans beradi. PZR

natijalarining vizualizatsiyasi va fotohujjatlashtirish jarayoni UVT365 transilluminatorida amalga oshirildi (4-rasm). PZR mahsulotlarining uzunligi “1 Kb Plus DNA Ladder” molekulyar og‘irlik markeri yordamida (Thermo Fisher Scientific, USA) aniqlanib, natijalar tasdiqlandi.



**4-rasm.** CSN2 geni PZR amplifikatsiya natijalarining elektroferogrammasi

Elektroferogramma natijalari barcha sinov namunalarida CSN2 geniga mos keluvchi amplikonlarning mavjudligini tasdiqladi. Gel elektroferogrammasi asosida aniqlanishicha, PZR mahsulotlarining taxminiy molekulyar og‘irligi 9000 juft nukleotid (j.n.) atrofida bo‘lib, bu indikator CSN2 genining ma’lum nukleotid ketma-ketligiga mos keladi. Ushbu natijalar qoramol DNK namunalarida CSN2 genining barqaror mavjudligini ko‘rsatadi va keyingi genotiplash yoki molekulyar markerlar asosidagi seleksiya ishlari uchun asos yaratadi.

So‘nggi yillarda beta-kazein genining polimorfizmi sut sifati va inson salomatligiga ta’siri bilan bog‘liq holda nafaqat ilmiy doiralar, balki sut mahsulotlari ishlab chiqaruvchilari hamda iste’molchilarning ham e’tiborini tobora ortib bormoqda. Ushbu genetik farqlilikni chuqurroq o‘rganish nafaqat molekulyar darajadagi bilimlarni boyitadi, balki amaliy jihatdan ahamiyatli bo‘lgan seleksiya va naslchilik strategiyalarini takomillashtirishga xizmat qiladi.

**Xulosa.** Olib borilgan tahlillar natijalari shuni ko'rsatmoqdaki, beta-kazein polimorfizmini o'rganish bo'yicha tadqiqotlar turli xil qoramol zotlari populyatsiyalari, shu jumladan mahalliy va xorijiy zotlarga mansub chorva guruhlari miqyosida kengaytirilishi mumkin. Bunday yondashuv fermer xo'jaliklariga genetik jihatdan afzal xususiyatlarga ega bo'lgan hayvonlarni aniqlash imkonini beradi va bu esa seleksiya dasturlarining samaradorligini oshirishga xizmat qiladi. Natijada, O'zbekistonda yuqori sifatli va inson salomatligi uchun foydali bo'lgan sut mahsulotlarini ishlab chiqarish imkoniyatlari kengayadi.

Tahlil natijalariga ko'ra, CSN2 genining kodlovchi qismlarida hamda promoter sohasida hech qanday insertsiya-deletsiya (InDel) polimorfizmlar aniqlanmadi. Bu esa genetik strukturaning izchil saqlanayotganligini ko'rsatadi. Biroq, CSN2 genining tarkibida yagona nukleotidli polimorfizmlar (SNP) mavjud bo'lishi ehtimoldan xoli emas. Bunday polimorfizmlarni aniqlash uchun PZR mahsulotlarining DNK sekvenslash usuli yordamida chuqurroq tahlil qilinishi zarur. Sekvenslash orqali olingan natijalar, kelajakda CSN2 genining turli qoramol zotlaridagi alellari va ularning sut sifatiga ta'siri o'rtasidagi bog'liqlikni aniqlashga imkon beradi. Shuningdek, bu kabi molekulyar-genetik tahlillar seleksion dasturlarni genetik asosda olib borish, yuqori sifatli sut mahsulotlari ishlab chiqarishda foydalanish uchun muhim ahamiyat kasb etadi.

#### **Foydalanilgan adabiyotlar**

1. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 18.03.2019 yildagi "Chorvachilik tarmog'ini yanada rivojlantirish va qo'llab-quvvatlash chora-tadbirlari to'g'risida"gi PQ-4243-sonli qarori.
2. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 29.01.2020 yildagi "Chorvachilik tarmog'ini davlat tomonidan qo'llab-quvvatlashning qo'shimcha chora-tadbirlari to'g'risida"gi PQ-4576-sonli qarori.
3. Ristanic Marko, et al. "Beta-casein gene polymorphism in Serbian Holstein-Friesian cows and its relationship with milk production traits." Acta Veterinaria-Beograd 2020, 70 (4), pp. 497-510

4. Rijnkels M: Multispecies comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002, 7(3): 327-345.

5. Singh LV, Jayakumar S, Sharma A, Gupta SK, Dixit SP, Gupta N, Gupta SC: Comparative screening of single nucleotide polymorphisms in  $\beta$ -casein and  $\kappa$ -casein gene in different livestock breeds of India. *Meta gene* 2015, 4: 85-91.

6. Cieřła, A., & Jędrzejewski, P. (2012). Molecular analysis of beta-casein gene variants in dairy cattle. *Animal Science Papers and Reports*, 30(4), 327-334.

7. Kang In-Sung. Development of Absorbance and Fluorescence Spectrometer for Micro-Volume Nucleic Acids of Bio-Samples Using Total Internal Reflection: Dissertation – Seoul National University Graduate School, 2013.