

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті
Қ.Тұрысов атындағы геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

Болтаев Сағыныш Серикович

Сүт безі қатерлі ісігі мен *FGFR2* гендік полиморфизімінің ассоциациясын
табу

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы

Алматы 2022

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті
Қ.Тұрысов атындағы геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

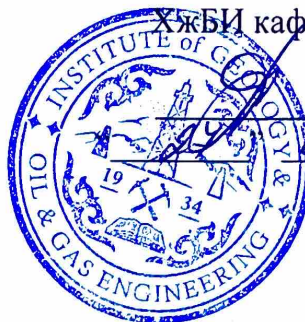
ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ

ХЖБИ кафедра меңгерушісі

Ph.D. доктор

Амитова А.А.

“ 05 ” 2022 ж.



ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Тақырыбы: «Сүт безі қатерлі ісігі мен *FGFR2* гендік полиморфизімінің ассоциациясын табу»

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы

Орындаған: Болтаев С.С.

Пікір беруші:
Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-ның
Биология және биотехнология
кафедрасының
профессоры, б.ғ.к.

Атамбаева Ш.А.

Ғылыми жетекші:

Ph.D. доктор

Амитова А.А.

“ 05 ” 2022 ж.

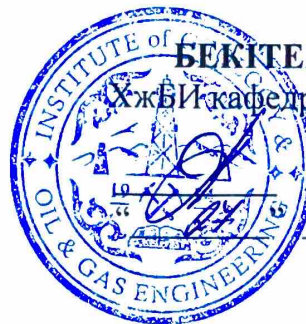
Алматы 2022

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті

Қ. Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы



БЕКІТЕМІН

ХЖБИ кафедра меңгерушісі

Ph.D. доктор

Амитова А.А

05 _____ 2022ж.

**Дипломдық жұмыс орындауға
ТАПСЫРМА**

Білім алушы Болтаев С.С.

Тақырыбы : «Сүт безі қатерлі ісігі мен *FGFR2* гендік полиморфизмінің ассоциациясын табу»

Университет Ректорының 2021 жылғы "24" желтоқсан №489П/Ө бұйрығымен бекітілген

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі 2022 жылғы "1" маусым

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері: *диплом алдындағы тақырып бойынша әдебиеттерге шолу нәтижелері, теориялық мәліметтер жиыны*

Дипломдық жұмыста қарастырылатын мәселелер тізімі

а) Әдебиетке шолу;

б) Зерттеу материалдары мен әдістер;

в) Зерттеу нәтижелері;

Ұсынылатын негізгі әдебиет: 51 атау


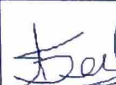
Дипломдық жұмысты дайындау

КЕСТЕСІ


Бөлімдер атауы, қарастырылған мәселелер тізімі	Ғылыми жетекші мен кеңесшілерге көрсету мерзімдері	Ескерту
Әдебиетке аналитикалық шолу	Қаңтар	-
Материалдар мен әдістер	Ақпан	-
Зерттеу қорытындылары: лабораториялық жұмыстар	Наурыз	-

Дипломдық жұмыс бөлімдерінің кеңесшілері мен норма бақылаушыларының
аяқталған жұмысқа қойылған

қолтаңбалары

Бөлімдер атауы	Кеңесшілер, аты, әкесінің аты, тегі (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күні	Қолы
Норма бақылау	Белкожаев А.М. (тьютор, жаратылыстану ғылымдарының магистрі, PhD кандидат)	26.05.2022	
Ғылыми кеңесшісі	Белкожаев А.М. (тьютор, жаратылыстану ғылымдарының магистрі, PhD кандидат)	06.05.2022	

Ғылыми жетекші  Ph.D. доктор Амито́ва А. А.

Тапсырманы орындауға алған білім алушы  Болтаев С.С.

Күні

" 04 05 2022 ж

АНДАТПА

«Сүт безі қатерлі ісігі мен *FGFR2* гендік полиморфизмінің ассоциациясын табу» атты дипломдық жұмыс 32 беттен, оның ішінде 5 кесте, 11 суреттен және келесідей құрамдас бөліктерден: Кіріспе; 3 бөлімнен; қорытындыдан; белгілер мен қысқартулардан және 51 атаудан тұратын ғылыми мақалалар мен оқу құралдары көрсетілген тізімнен тұрады.

Мақсаты: *FGFR2* гені мен сүт безінің қатерлі ісігі арасындағы гендік полиморфизмін зерттеу.

Дипломдық жұмыста сүт безінің қатерлі ісігінің таралуы, *FGFR2* гені жайлы түсінік, оның функциясы және *СБКІ*-мен байланысы мен механизмі көрсетілген. Сүт безі қатерлі ісігі қатерлі - ісік ауруларының ең көп таралған түрі және бүкіл әлемдегі әйелдерде қатерлі ісік ауруынан болатын өлімнің негізгі себебі болып табылады. Фибробласттардың өсу факторы 2 (*FGF2*) рецепторларының локусы ассоциациялардың тәуелсіз жалпы геномдық зерттеулерінде сүт безі қатерлі ісігінің даму қаупі ретінде дәйекті түрде анықтады. Алайда, *FGFR2* арқылы тәуекелдің негізіндегі молекулалық механизмдер әлі белгісіз. Модельдік жүйелерді қолдана отырып, *FGFR2*-мен реттелетін гендер көбінесе сүт безі қатерлі ісігінің қауіпті локусымен байланысты екені көрсетілген.

Түйін сөздер: *FGFR2* гені, сүт безінің қатерлі ісігі, гендік полиморфизм.

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа «Поиск ассоциации полиморфизма рака молочной железы и гена *FGFR2*» состоит из 32 страниц, в том числе 5 таблиц, 11 рисунков и списка с указанием научных статей и учебных пособий 51 наименованием, включающих введение; 3 раздела; заключение; признаки и сокращения.

Цель: изучить полиморфизм генов между геном *FGFR2* и раком молочной железы.

В дипломной работе представлены понятие о распространенности рака молочной железы, гене *FGFR2*, его функции и механизм связи с РМЖ. Рак молочной железы является наиболее распространенной формой рака и является основной причиной смерти от рака у женщин во всем мире. Лocus рецепторов фактора роста фибробластов 2 (*FGF2*) последовательно идентифицировался как риск развития рака молочной железы в независимых общих геномных исследованиях ассоциаций. Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе риска через *FGFR2*, пока неизвестны. Показано, что гены, регулируемые *FGFR2* с использованием модельных систем, часто связаны с локусом риска рака молочной железы.

Ключевые слова: ген *FGFR2*, рак молочной железы, полиморфизм генов.

ANNOTATION

The thesis "Search for the association of breast cancer polymorphism and the *FGFR2* gene" consists of 32 pages, including 5 tables, 11 figures and a list indicating scientific articles and textbooks 51 titles, including an introduction; 3 sections; conclusion; signs and abbreviations.

Purpose: study the gene polymorphism between the *FGFR2* gene and breast cancer.

The thesis presents the concept of the prevalence of breast cancer, the *FGFR2* gene, its functions and the mechanism of communication with BC. Breast cancer is the most common form of cancer and is the leading cause of cancer death in women worldwide. The fibroblast growth factor receptor 2 (*FGF2*) locus has been consistently identified as a breast cancer risk in independent general genomic association studies. However, the molecular mechanisms underlying the risk through *FGFR2* are still unknown. It has been shown that genes regulated by *FGFR2* using model systems are often associated with the breast cancer risk locus.

Keywords: *FGFR2* gene, breast cancer, gene polymorphism.

МАЗМҰНЫ

Кіріспе	9
1 Әдебиеттерге шолу	10
1.1 Сүт безінің қатерлі ісігі және оның Қазақстандағы жағдайы	10
1.2 <i>FGFR2</i> гені туралы түсінік	11
1.3 Гендік полиморфизм	12
1.4 <i>FGFR2</i> гені мен сүт безінің қатерлі ісігі арасындағы байланыс және механизмі және қызметі	14
2 Материалдар мен әдістер	17
2.1 Qiagen-мен қаннан ДНҚ бөлу әдісі	17
2.2 Полимеразды тізбекті реакция әдісі	18
2.3 Бөлінген ДНҚ-ның концентрациясын өлшеу әдістері	20
2.4 Электрофорез әдісі	21
2.5 Статистикалық талдау	22
3 Зерттеу нәтижелері	23
3.1 <i>FGFR2</i> генінің rs2420946 учаскесінде полиморфизмді сынау	23
3.2 <i>FGFR2</i> генінің rs2981578 аймағындағы полиморфизмді сынау	24
Қорытынды	27
Белгілер мен қысқартулар	28
Пайданылған әдебиеттер тізімі	29

КІРІСПЕ

Сүт безінің қатерлі ісігі — бұл сүт бездерінің жасушалары шамадан тыс бөлінуінен шығатын ауру. Сүт безі қатерлі ісігінің әртүрлі түрлері бар. Сүт безі қатерлі ісігінің түрі сүт безіндегі жасушалардың қатерлі ісікке айналуына байланысты. Сүт безінің қатерлі ісігі сүт безінен тыс қан тамырлары мен лимфа тамырлары арқылы таралуы мүмкін.

FGFR фибробласттардың өсу факторының рецепторлары отбасының гендері өсу, дифференциация, көші-қон, жасуша тіршілігі сияқты көптеген жасушалық процестерді реттеуге қатысады, сонымен қатар ісік ангиогенезіне қатысады. *FGFR2* генінің 2 экзонының полиморфизмі еуропалық және азиялық популяция үшін сүт безі қатерлі ісігінің даму қаупімен байланысты.

Молекулалық-биологиялық тәсіл адам геномын декодтау арқылы қазіргі уақытта канцерогенез механизмдерін зерттеудің қажетті және тез дамып келе жатқан құрамдас бөлігіне айналды.

Зерттеу жобасының өзектілігі: Бүгінгі таңда сүт безі қатерлі ісігі әйелдер арасында ең көп таралған қатерлі ісік болып табылады. Геномдық зерттеуі көрсеткендей, *FGFR2* гені сүт безі қатерлі ісігінің қаупімен тығыз байланысты. Сондықтан сүт безі қатерлі ісігінің дамуындағы *FGFR2* генін зерттеу өзекті тақырып болып табылады.

Зерттеу нысаны: Қазақ онкология және радиология ғылыми-зерттеу институтынан сүт безінің қатерлі ісігімен ауыратын науқастардың веналық қанындағы ДНҚ.

Зерттеу әдістері: ДНҚ-бөлу, полимеразды тізбекті реакция, полиакриламидті гельдегі электрофорез, статистикалық мәліметтерді өңдеу (*STATISTICA 5.0 бағдарламасы, APSampler алгоритмі*).

Жұмыстың мақсаты: *FGFR2* гені мен сүт безінің қатерлі ісігі арасындағы гендік полиморфизмін зерттеу.

Міндеттері:

1. Сүт безінің қатерлі ісігі ауруын қарастыру
2. *FGFR2* генінің құрылымдық функционалдық жағдайын сипаттау арқылы сүт безі ісігіндегі негізгі рөлін анықтау.
3. Сүт безі ісігінің болжамдық маркерлері ретінде қолдану мүмкіндігін анықтау мақсатында аллель жиіліктерін және пациенттер мен сау адамдар топтарында генотиптердің таралуын салыстыру.

Жұмысты орындаудың практикалық базасы: М. Ә. Айтхожин атындағы молекулярлық биология және биохимия институтының ғылыми қызметкері Белкожаев Аяз Маратовичтің кеңесшілігімен, ҚазҰУ-нің биотехнология кафедрасы.

НЕГІЗГІ БӨЛІМ

1. ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

1.1 Сүт безінің қатерлі ісігі және оның Қазақстандағы жағдайы

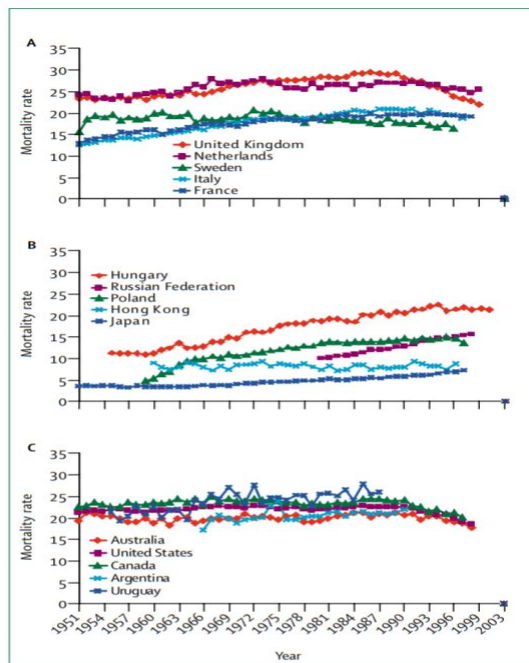
Сүт безі қатерлі ісігі (*СБҚІ*), бүкіл әлемдегі әйелдер арасында ең көп таралған қатерлі ісіктердің бірі, әйелдердің онкологиялық аурулары арасында өлім-жітімнің ең жоғары деңгейіне ие. Оның ауруы жылдан жылға артып келеді, ал әлемдегі пациенттер жасарып келеді. *СБҚІ* экологиялық және генетикалық факторлардың өзара әрекеттесуінің нәтижесі болып табылады. Бірдей канцерогендік факторлармен *СБҚІ* адамдардың аз ғана бөлігінде дамиды, бұл генетикалық фондағы айырмашылықтар *СБҚІ* бейімділігіндегі жеке айырмашылықтарға әкелетінін көрсетеді [1].

Зерттеулердегі маңызды жетістіктерге қарамастан, сүт безі қатерлі ісігі денсаулық сақтаудың маңызды мәселесі болып қала береді және биомедициналық зерттеулердің басты басымдығы болып табылады. Жылына шамамен 2,200,000 жаңа жағдайды қамтитын осы агрессивті аурудың таралуы алаңдаушылық тудырады; бұл көрсеткіштер алдын-алу саласында қол жеткізілген баяу прогресті көрсетеді [2]. Алайда, диагнозы қойылған әйелдер үшін өлім деңгейі жақсарды, бірақ, өкінішке орай, метастаз жағдайында өмір сүрудің медианасы күрт төмен (* 24 ай). Бүкіл әлемде сүт безі қатерлі ісігі әйелдерге әсер ететін ең көп таралған қатерлі ісік болып табылады және алдағы 5–10 жылда оның ауруы мен өлімі едәуір артады деп күтілуде [3]. Қатерлі ісік ауруының бұл көрсеткіштері дамушы елдерде пропорционалды түрде жоғары болады және 20 жылдан кейін аурудың 55% - ға және өлімнің 58% - ға жетеді деп күтілуде [4]. Қатерлі ісік түрлерінің көпшілігі үшін алтын стандартты тәсіл ретінде жүйелі химиотерапияны стандарттау және өмір сүру деңгейінің қалыпты жақсаруы және уыттылықтың төмендеуі арқылы ғылыми қоғамдастық пен фармацевтика саласын қаржыландыруға бағытталған терапия үлкен қызығушылық тудырды [5, 6].

45 жастан асқан әйелдерде сүт безінің қатерлі ісігі қатерлі ісік ауруынан болатын өлімнің басты себебі болып табылады. Сонымен қатар, қазіргі кездегі деректер жас әйелдердегі сүт безі қатерлі ісігі дамушы елдерде дамыған елдермен салыстырғанда айтарлықтай ауыртпалық болып табылатындығын және жас әйелдердің пропорционалды емес саны жыл сайын қатерлі ісіктің осы түріне байланысты қайтыс болатындығын көрсетеді. Сүт безі онкологиясындағы жас әйелдің нақты анықтамасы әртүрлі, көптеген мақалалар 35, 40 немесе 45 жастағы әйелдер туралы [7]. Алайда, бірнеше зерттеулер менопаузаға дейінгі сүт безі қатерлі ісігі бар әйелдер арасында өте ерте ауруы бар (40 жас) және салыстырмалы түрде ерте ауруы бар (40-49 жас) әйелдерге одан әрі бөліну маңызды болуы мүмкін екенін растайды [8].

Өлім деңгейі 1951 жылдан 1990 жылға дейін өсті, бірақ содан кейін Еуропаның көптеген елдерінде, әсіресе Ұлыбританияда төмендеді. Алайда,

орталық және Шығыс Еуропа елдерінде өлім-жітім деңгейі өсуде. Гонконг пен Жапонияның көрсеткіштері Еуропаға қарағанда төмен болғанымен, олар да өсті. Америкадағы көрсеткіштер Батыс Еуропадағы көрсеткіштерге ұқсас болды (1 сурет).



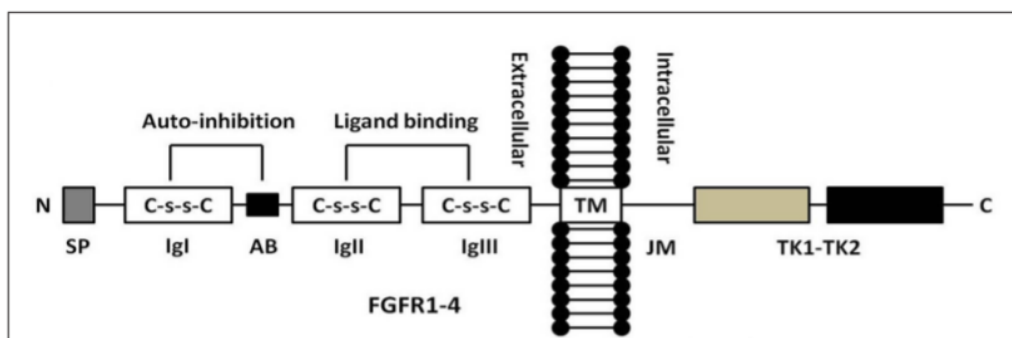
1-сурет: Әйелдерде сүт безі обырынан болатын өлім көрсеткіші [10].

Қазіргі уақытта сүт безі қатерлі ісігінің алдын-алудың тиімді стратегиялары мен шараларын анықтау қиын міндет болып қала береді. Бұл аурумен ауыратын бірінші дәрежелі туыстары бар әйелдердің қаупі жоғары болса да, негізгі бірлескен талдау олардың сүт безі қатерлі ісігінің дамуы екіталай екенін және диагноз қойылған кезде олардың көпшілігі 50 жастан асатындығын көрсетті. Сүт безі қатерлі ісігі жиі кездесетін елдерде өмір бойы сүт безінің қатерлі ісігі ауруы бірінші дәрежелі бір ауру туысы бар әйелдер үшін 5,5%, ал екі ауруы бар әйелдер үшін 13,3% құрайды. Бұл ауруды дамытатын тоғыз әйелдің сегізінде ауру анасы, қарындасы немесе қызы жоқ [9].

1.2 *FGFR2* гені туралы түсінік

FGFR генінің түріне көптеген жасушаішілік төменгі сигналдық жолдармен байланысты келесі негізгі мүшелер кіреді: *FGFR1-4* және *FGFR5* (*FGFRL1* деп те аталады). *FGFR1-4*-жасушадан тыс домен, бір реттік трансмембраналық домен және карбокси терминалды цитоплазмалық домен бар өсу факторы рецепторларының типтік тирозин киназалары [10]. Жасушадан тыс бөлікте үш иммуноглобулин тәрізді домен (*Ig*) (*IgI*, *IgII* және *IgIII*) бар, қышқыл блогы бар, ол *IgI-IgII* линкер аймағында глутамин қышқылы мен аспарт қышқылының қалдықтарының тізбегі болып табылады [11]. Аминокон бөлігіндегі *IgI* және

қышқыл блогы автоингибирлеуге қатысады, ал *IgII* және *IgIII* домендері лигандты байланыстыру үшін қажет деп саналады [12]. Жасушаішілік бөлік юкст мембраналық доменнен, бөлінген тирозин киназа доменінен және карбокси терминалды құйрықтан тұрады (сурет 2) [13]. Бұл рецепторлық жүйеде гепаран сульфатының протеоглиқандары және гепарин тәрізді молекулалар бар, олар *FGF-FGFR* байланыстыру және *FGFR* активтендіру үшін қажет [14]. *FGFR1-4* сияқты, *FGFR5*-тің N-терминалды жасушадан тыс аймағында сигнал пептиді, үш типтік Ig домені, алты цистеин және қышқыл блогынан тұрады [15].



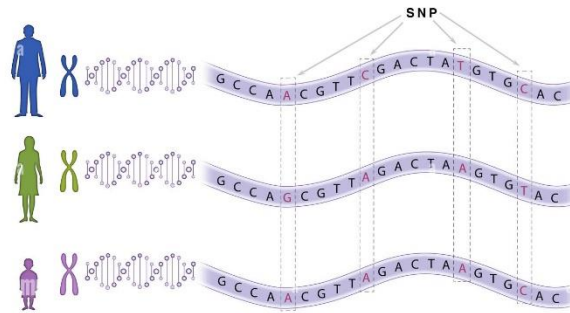
2-сурет. Фибробласттардың өсу факторы рецепторларының (*FGFR*) рецепторлық тирозин киназалары отбасының құрылымы [16].

Геннің функциясына келетін болсақ, *FGFR1-4* эмбриональды даму кезінде әртүрлі процестерге қатысатын мезодерма индукторлары ретінде ғана емес, сонымен қатар органогенезде, әсіресе жүйке жүйесінде, аяқ-қолдарда, ортаңғы ми мен өкпеде маңызды рөл атқарады [17]. Сонымен қатар, *FGFR1-4* адамның қалыпты тіндерінде гомеостазды сақтауға және ересек денеде тіндердің қалпына келуін, ангиогенезді және қабынуды реттеуге қатысады [18]. Сол сияқты, *FGFR1-4* әртүрлі жасушалық процестерге, соның ішінде жасушалардың өсуіне, өмір сүруіне, саралануына және көші-қонына қатысады. Сонымен қатар, олар патологиялық процестерге қатысады, соның ішінде ангиогенез, жараларды емдеу және қатерлі ісік [19]. Қатерлі ісік жасушаларында *FGFRs* әр түрлі *FGF* лигандтарымен байланысқан кезде, *FGFRs* Ras-тәуелді митоген-белсендірілген ақуыз киназасын (*MAPK*), Ras-тәуелсіз фосфоинозитид3-киназалар-В/*Akt* ақуыз киназасын (*PI3K-PKB/Akt*) және сигнал түрлендіргіші мен транскрипция активаторын (*STAT*)-тәуелді сигнал беру жолдарының аномальды реттелуіне әкелуі мүмкін, қатерлі ісік түрлерінің дамуымен тығыз байланысты [20].

1.3 Гендік полиморфизм

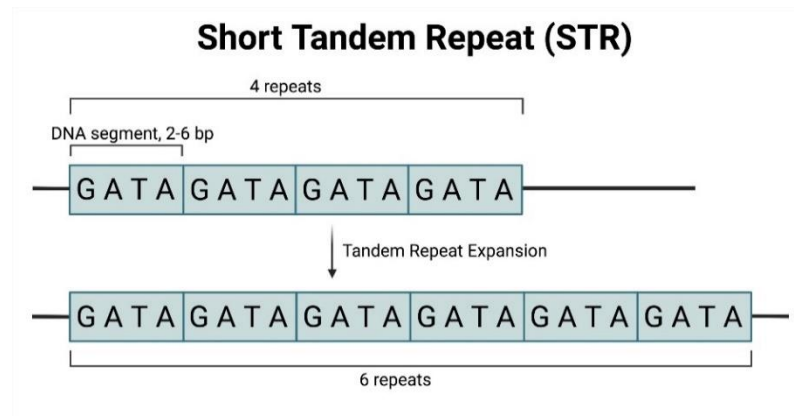
Полиморфизм-бұл ДНҚ тізбегі үшін базалық жұп тізбегінің бірдей бөлігіндегі әртүрлі өзгеріс. Ферменттер мен ДНҚ полиморфизмі болуы мүмкін. ДНҚ полиморфизмінің төрт түрлі түрі бар [21]:

1. Бір нуклеотидті полиморфизм-бұл тек бір нуклеотид ерекшеленетін ДНҚ тізбегі. Адам геномындағы бір нуклеотидтің айырмашылығына байланысты миллиондаған *SNP* (3-сурет) табуға болады.



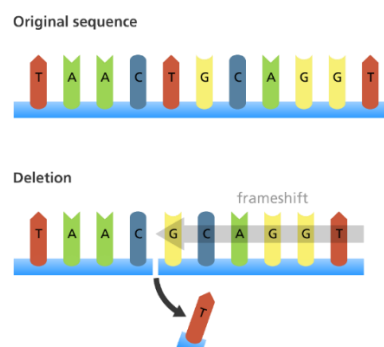
3-сурет: Бір нуклеотидті полиморфизм

2. Тандемді қайталаудың сипатталған полиморфизмі-бірқатар нуклеотидтердің қайталануы. Полиморфизм қайталанулар санынан тұрады (4-сурет).



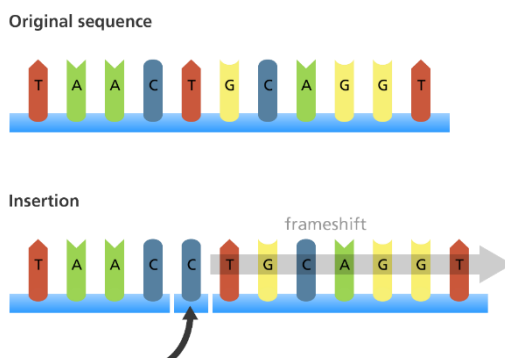
4-сурет: Тандемді қайталау полиморфизмі

3. Құрылымдық нұсқаларға нуклеотидтер тізбегінің жойылуы немесе қиылысуы, инверсия және транслокация жатады. Аллельде бір нуклеотид немесе бірнеше нуклеотид болмаса, оны делеция деп атайды (5-сурет).



5-сурет: Хромосома делециясының графикалық иллюстрациясы

Аллель түпнұсқадан өзгеше бір немесе бірнеше нуклеотидтерді қосқанда, оны инсерция деп атайды (6-сурет). Инверсиялық полиморфизм бір аллельде басқа аллельде төңкерілген нуклеотидтер тізбегі болған кезде пайда болады. Инверсия, әдетте, хромосома екі жерде жарылып, ДНҚ-ны қалпына келтіру механизмдері ортаңғы фрагментті қате, бірақ керісінше біріктірген кезде пайда болады. Әдетте, олар мындаған базалық жұптарды қамтиды. Транслокация ДНҚ бөлімі бір хромосомадан алынып, содан кейін басқа хромосомаға салынған кезде пайда болады.



6-сурет: Хромосома инсерциясының графикалық иллюстрациясы

4. Тізбекті полиморфизм-соңғы полиморфизм-бұл ДНҚ тізбегінің көп мөлшері үшін аймаққа арналған нуклеотидтердің барлық тізбегі, содан кейін тізбектер арасындағы барлық айырмашылықтарды зерттеу. Мұнда ДНҚ-дағы айырмашылықтар *SNP*, тандемді қайталау немесе құрылымдық өзгеріс болуы мүмкін. Бұл құбылыс үшін жалпы қабылданған термин жоқ, сондықтан біз оларды тізбекті полиморфизм деп атаймыз. Шын мәнінде, тізбекті полиморфизмдер барлық белгілі ДНҚ полиморфизмдерін қамтиды [21].

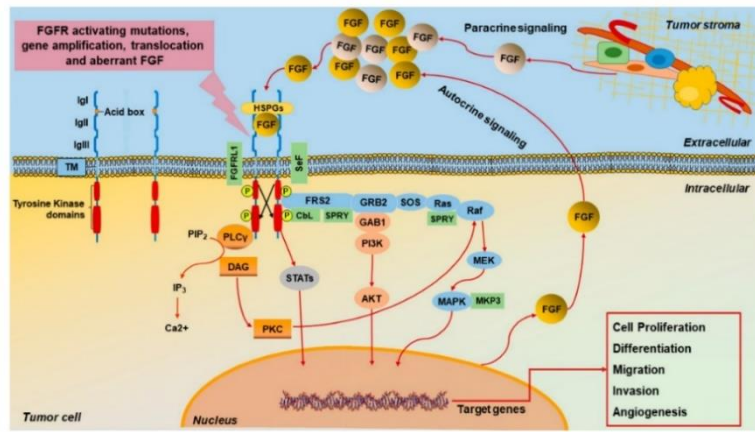
1.4 *FGFR2* гені мен сүт безінің қатерлі ісігі арасындағы байланыс және механизмдері мен қызметі

Тұтас геномдық іздеу ассоциациясы (*GWAS*) *FGFR2*-ні сүт безінің қатерлі ісігіне сезімтал ген ретінде анықтады, ал екінші интрондағы *SNP FGFR2* сүт безі қатерлі ісігінің даму қаупінің жоғарылауымен байланысты болды [22, 23]. *FGFR2* экспрессиясы мен күшеюі сүт бездерінің ісіктерінің 5-10% - ында жоғарылағаны бұрыннан белгілі [24]. Сонымен қатар, ісік биологиясы "қауіп тобының" кіші аллелі сүт безі қатерлі ісігінің даму қаупін гетерозиготада 1,26 есе және гомозиготада 1,63 есе арттырған. Тәуекелдің өсуі салыстырмалы түрде аз болғанымен, кіші аллельдің кем дегенде бір көшірмесін алып жүрген популяция үшін қауіптің 40% құрайды [25]. Бір қызығы, кіші аллель *ER*-теріс сүт безі қатерлі ісігіне қарағанда *ER*-позитивті дамуымен күшті байланыс көрсетті [26]. Сонымен қатар, ең күшті байланысты нұсқалар *FGFR2* генінің 2-ші интронында орналасқан, бұл сүтқоректілерде жоғары қауіпсіздікті көрсетеді және транскрипция факторларын байланыстыратын бірнеше болжамды сайттардан тұрады [21, 22]. Жақында Exon 14 *FGFR2*, p.K660N (с.1980G>C) соматикалық

миссенс мутациясы сүт безі ісіктерінің дамуымен байланысты екендігі анықталды. Әрі қарай жүргізілген зерттеу р.К660N мутациясы негізінен *FGFR2-IIIb* изоформасымен делдал болғанын көрсетті. Сонымен қатар, *FGFR2* геніндегі сүт безі қатерлі ісігінің мутацияларынан туындаған *FGF* сигнал беру бұзылысының фенотиптік нәтижесінің нақты механизмдерін анықтау қажет [27].

Адамның жалпы хромосомасы 10q26 *FGFR2* балама шашыраудың арқасында *FGFR2b* және *FGFR2c* изоформаларын кодтайды [28-31]. *FGFR2b* және *FGFR2c* *FGF* сигналдарын *FRS2* арқылы *RAS-ERK* және *PI3K-AKT* сигналдық каскадтарына, сондай-ақ *PLC α* арқылы *DAG-PKC* және *IP3*-кальмодулин сигналдық каскадтарына жіберетін фибробласттардың өсу факторының рецепторлары (*FGF*) ретінде қызмет етеді [32].

Сүт безі қатерлі ісігі кезіндегі *FGF/FGFR* аберранттық сигнализациясының схемалық бейнесі 7 – суретте көрсетілген. *FGFR* құрамында үш жасушадан тыс иммуноглобулинге ұқсас қосалқы домендер (*IgI*, *IgII* және *IgIII*), трансмембраналық α -спиральдар және жасушаішілік екі жақты цитоплазмалық тирозин киназа домені бар. *IgI* және *IgII* қышқыл қораппен бөлінеді. Ісік жасушалары және/немесе стромальды бөлік шығаратын *FGF* *FGFR* мембраналық мономерлерімен байланысады, содан кейін *FGFR* димеризациясы және тирозин киназа домендерінің фосфорлануы пайда болады. *FGF*-ті *FGFR*-мен байланыстыру гепаран сульфатының (*HSPG*) протеоглиқандарымен тұрақтандырылады. Кейіннен кешен өтпелі ақуыздардың түйісуіне және төменгі жолдардың белсенуіне әкеледі. Мысалы, лиганд-ынталандырылған *FGFR* фосфорланады *FGFR*-байланысқан цитозольді док-протеин *FRS2*. Фосфорланғаннан кейін *FRS2* Son of Sevenless (*SOS*) адаптерінің ақуызын және егеуқұйрық саркомасын (*RAS*) белсендіру үшін ақуыз өсу факторының рецепторымен (*GRB2*) және тез жеделдетілген фибросаркоманың (*RAF*) және *MAPK / ERK* киназасының (*MEK*) жолын алады. Тағы бір кешенге В (*AKT*) ақуыз киназасының жолын белсендіретін фосфоинозитид 3-киназаны (*PI3K*) жалдайтын *GRB2*-байланысқан 1 байланыстыратын ақуыз (*GAB1*) кіреді. Фосфолипаза С γ (*PLC γ*) фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфатты (*PIP2*) фосфатидилинозитолға (3,4,5)-трифосфатқа (*PIP3*) және диацилглицеринге (*DAG*) гидролиздейді. *PIP3* кальцийді шығарады, ал *DAG* с ақуыз киназасын белсендіреді, бұл *RAS*-қа тәуелсіз *RAF* фосфорлануы арқылы *MAPK* жолының активтенуін арттыруға көмектеседі. Басқа каскадтарды *FGFR* іске қосуы мүмкін, мысалы, сигнал түрлендіргіші және транскрипцияға тәуелді сигнализация активаторы (*STAT*). Жоғарыда аталған эффекторлар өз кезегінде гендердің экспрессиясын, сонымен қатар жасушалардың көбеюін, көші-қонды, инвазияны және ангиогенезді реттейді. *FGF / FGFR* сигнализациясы рецепторлардың ішкі орналасуымен немесе *FGFR*-тәрізді 1 (*FGFRL1*) сияқты теріс реттегіштер арқылы, *FGF* (*SEF*), Sprouty (*SPRY*), Casitas B-lineage Lymphoma (Cbl) және *MAPK* фосфатаза 3 (*MKP3*) ұқсас өрнегімен реттелуі мүмкін [33].



7-сурет: Сүт безі қатерлі ісігі кезіндегі *FGF/FGFR* аберранттық сигнализациясының схемалық бейнесі

Көптеген зерттеулер *FGFR2* полиморфизмі (rs2981582, rs2420946 және rs2981578) мен *СБКІ* қаупі арасындағы байланысты көрсетеді. Алайда, этникалық, аймақтық және басқа факторлардың айырмашылығына байланысты тиісті есептердің тұжырымдары әлі де сенімді емес.

2 МАТЕРИАЛДАР МЕН ҚОЛДАНЫЛҒАН ӘДІСТЕР

2.1 QIAGEN-мен қаннан ДНҚ бөлу әдісі

ДНҚ-ны бірнеше үлгілерден бөліп алу үшін көптеген түрлі әдістерді қолдануға болады. Генетикалық зертханаларда ДНҚ әдетте бүкіл қан үлгілерінен алынады және мысалы, полимеразды тізбекті реакцияның (*ПТР*) стандартты әдістері үшін қолданылады. Кәдімгі экстракция процедураларына фенолды хлороформмен тазарту немесе коммерциялық қол жетімді жиынтықтарды пайдалану жатады. Алайда, бұл қолмен дайындау хаттамалары ДНҚ репозиторийін орнату үшін қажет орташа және жоғары көлемді ДНҚ алуға жарамайды. Одан әрі өңдеуге жарамды ДНҚ алу үшін көптеген үлгілерді уақытты үнемдеумен өңдеу керек [34].

QIAgen арқылы ДНҚ бөліп алудың сатылары:

1. 20 мкл QIAGEN протеазасын 1,5 мл микроцентрифугалық түтікке тамшуырмен салып, 200 мкл үлгіні құю. Егер үлгі көлемі 200 мкл-ден аз болса, тиісті *PBS* көлемін қосу керек.

2. 200 мкл *al* буферін қосу. Жақсылап араластырып, шайқау.

3. 56°C температурада 10 минут инкубациялау. Қақпақтың тамшыларын кетіру үшін 1,5 мл микроцентрифугасы бар пробирканы қысқа мерзімде центрифугалау.

4. 200 мкл этанол қосу (96-100%). Жақсылап араластырып, шайқау. Қақпақтың тамшыларын кетіру үшін пробирканы қысқа уақыт ішінде центрифугалау.

5. Қоспаны тамшуырмен QIAamp шағын сығу бағанына құйып (2 мл жинау түтігіне) және 1 минут ішінде 6000 x g (8000 айн/мин) центрифугалайды. Ағынды және коллекторлық түтіктен қолданбау керек.

Ескерту: ДНҚ-ны *УПА* қабығынан немесе лимфоциттерден алған кезде, бітелуді болдырмас үшін толық жылдамдықта центрифугалау ұсынылады.

6. QIAamp шағын сығу бағанын жаңа 2 мл жинау түтігіне салыңыз және 500 мкл *AW1* буферін қосыңыз. 1 минут ішінде 6000 x g (8000 айн/мин) центрифугалаңыз.

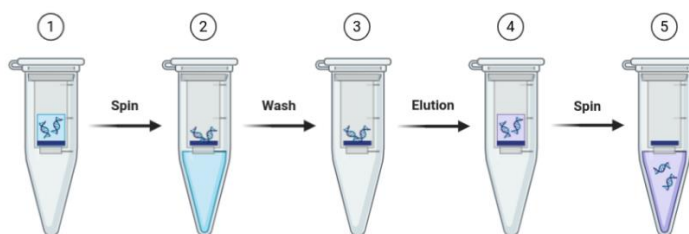
7. QIAamp шағын сығу бағанын жаңа 2 мл жинау түтігіне салып және 500 мкл *AW2* буферін қосу. 3 минут ішінде толық жылдамдықпен центрифугау (20 000 x g; 14 000 айн/мин).

8. Ұсынылады: QIAamp мини-сығу бағанын 2мл жинау үшін жаңа түтікке салып (жеткізілімге кірмейді) және 1 минут ішінде толық жылдамдықпен центрифугалау. Бұл *AW2* буферін ауыстыру мүмкіндігін жоққа шығарады.

9. QIAamp мини-сығу бағанын жаңа 1,5 мл микроцентрифугалық түтікке салып (жеткізілім жинағына кірмейді), 200 мкл *AE* буферлік ерітіндісін немесе дистилденген суды қосып, бөлме температурасында (15-25 °C) 1 минут инкубациялау. ДНҚ-ны элюциялау үшін 6000 x g (8000 айн /мин) кезінде 1 минут ішінде центрифугалау керек.

Жасуша лизисін иондық емес жуғыш затты (натрий додецил сульфаты), *Tris*-*Cl* және этилендиамин тетраасітке қышқылын (*EDTA*) пайдалану арқылы

жасауға болады және бұл қадам центрифугалау арқылы жасуша қалдықтарын жою арқылы жүзеге асырылады. Протеазды өңдеу протеиндерді денатурациялау үшін қолданылады. Органикалық еріткіштер, мысалы, хлороформ, фенол немесе фенол мен хлороформ қоспасы (фенол/хлороформ/изоамил спиртінің қатынасы 25:24:1) нуклеин қышқылы ерітіндісіндегі ақуыздарды денатурациялау және тұндыру үшін қолданылады, ал денатуратталған ақуыздар центрифугалау арқылы жойылады. және қадамдарды жуу. РНҚ-мен емдеу қажет емес РНҚ-ны жою үшін жасалады. ДНҚ-ны концентрациялау үшін мұздай суық этанолмен тұндыру жүргізіледі. Нуклеин қышқылының тұнбасы бір валентті катиондардың (тұз) орташа концентрациясы болған кезде түзіледі. Бұл тұнбаны центрифугалау арқылы қалпына келтіруге болады және *TE* буферінде немесе қос дистилденген суда қайта ерітіледі (8-сурет) [35].



8-сурет: ДНҚ алу үшін қолданылатын негізгі әдіс.

2.2 Полимеразды тізбекті реакция әдісі

Полимеразды тізбекті реакция (*ПТР*) 1983 жылы Маллис ойлап тауып, 1985 жылы патенттелген. Оның принципі ДНҚ полимеразасын қолдануға негізделген, ол *in vitro*-да белгілі бір ДНҚ тізбегінің репликациясы болып табылады. Бұл әдіс ДНҚ сығындысынан (ДНҚ матрицасы) белгілі бір ДНҚ фрагментінің (ДНҚ-ны қызықтыратын немесе мақсатты ДНҚ-ны зерттейтін тізбектің) ондаған миллиард көшірмесін жасай алады. Шынында да, егер ДНҚ сығындысында қызығушылық тізбегі болса, оны өте көп мөлшерде селективті түрде көбейтуге болады. *ПТР* күші матрицалық ДНҚ мөлшері теориялық тұрғыдан шектеуші фактор емес екендігіне негізделген. Осылайша біз ДНҚ сығындысының шексіз аз мөлшерінен нуклеотидтер тізбегін күшейте аламыз. Сондықтан *ПТР* тазарту немесе клондау әдісі болып табылады. Организмнен немесе әртүрлі шығу тегі бар ДНҚ-дан алынған ДНҚ-ны тікелей талдау мүмкін емес. Онда нуклеотидтер тізбегінің көп массасы бар. Сондықтан ген тізбегі немесе кодталмайтын реттілік (интрондар, транспозондар, мини немесе микросателлиттер) болсын, қызығушылық тізбегін немесе реттілігін бөліп алып, тазарту қажет [36].

ПТР-ны жасушаның бөлінуі кезінде пайда болатын ДНҚ репликация процесінің жеңілдетілген нұсқасы ретінде қарастыруға болады. Негізгі *ПТР* үш кезеңнен тұрады: мақсатты ДНҚ-ның термиялық денатурациясы, синтетикалық олигонуклеотидті праймерлердің праймерлерін тазарту және ДНҚ

полимеразасымен тазартылған праймерлерді ұзарту. Содан кейін бұл үш сатылы цикл бірнеше рет қайталанады, әр уақытта өнім молекулаларының санын екі есе арттырады. Пайда $X(1 + E)^n$ теңдеуімен анықталады, мұндағы x = мақсаттың бастапқы саны, E = күшейту тиімділігі және n = *ПТР* циклдерінің саны. Бірнеше циклден кейін алынған өнім екі праймердің 5' ұштары арасындағы қашықтықта анықталады. Кері транскрипцияның алдыңғы кезеңін орындау кезінде *ПТР* РНҚ-ға да қолданыла алады [37].

Полимеразды тізбекті реакция реакция қоспасында ДНҚ сығындысы (матрицалық ДНҚ), Тақ полимеразасы, праймерлер және буферлік ерітіндіде артық төрт дезоксирибонуклеозид трифосфаты (*dNTP*) кіреді. Реакциялық қоспасы бар пробиркалар термоциклдердің қыздыру блогында бірнеше ондаған рет қайталанатын температуралық циклдерге ұшырайды (үлгісі бар пробиркалар орналастырылған корпусы бар және температура өте тез және дәл өзгеруі мүмкін аппарат) 0-ден 100°C-қа дейін Пельтиер эффектісі бойынша) [38, 39]. Құрылғы температура кезеңдерінің циклдерінің ұзақтығы мен реттілігін бағдарлауға мүмкіндік береді. Әр цикл бірнеше ондаған секундтың үш кезеңін қамтиды. *ПТР* процесі келесідей үш кезеңге бөлінеді:

Денатурация

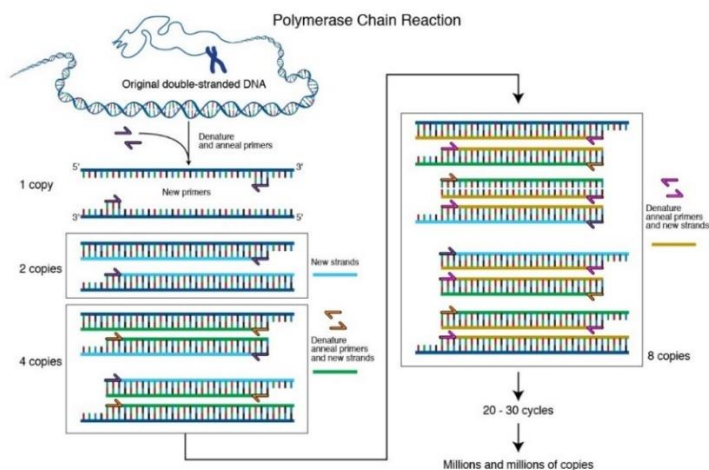
Бұл температураның жоғарылауымен алынған екі ДНҚ жіптерінің бөлінуі. Бірінші кезең денатурация температурасы деп аталатын 94°C температурада жүзеге асырылады. Бұл температурада репликация матрицасы ретінде қызмет ететін матрицалық ДНҚ денатурацияланады: сутегі байланысы 80°C-тан жоғары температурада сақталмайды, ал қос ішекті ДНҚ бір ішекті денатурацияға түседі.

Екінші кезең - жылыту (отжиг). Ол әдетте праймерлерді будандастыру температурасы деп аталатын 40-тан 70°C-қа дейінгі температурада жүзеге асырылады. Температураның төмендеуі сутегі байланысын қалпына келтіруге және осылайша қосымша жіптерді будандастыруға мүмкіндік береді. Күшейтілген ДНҚ-мен шектесетін аймақтарды толықтыратын қысқа бір тізбекті праймерлер ұзын тізбекті матрицалық ДНҚ-ға қарағанда оңай будандастырылады. Будандастыру температурасы неғұрлым жоғары болса, соғұрлым селективті будандастыру соғұрлым нақты болады.

Үшінші кезең элонгация деп аталатын 72°C температурада жүзеге асырылады. Бұл қосымша тізбектің синтезі. 72°C температурада Тақ полимераз бір тізбекті ДНҚ-мен байланысады және реакциялық қоспада болатын дезоксирибонуклеозид трифосфаттарын қолдана отырып, репликацияны катализдейді. Осылайша, матрицалық ДНҚ аймақтары праймерлерден төмен селективті түрде синтезделеді. Келесі циклде алдыңғы циклде синтезделген фрагменттер өз кезегінде матрица болып табылады және бірнеше циклден кейін басым түрлер праймерлер будандастырылған аймақтар арасындағы ДНҚ тізбегіне сәйкес келеді. Талданған ДНҚ мөлшерін синтездеу үшін (шамамен 0,1 мкг) 20-40 цикл қажет. Әрбір цикл алдыңғы циклдегі ДНҚ мөлшерін теориялық тұрғыдан екі есе арттырады. 72° С, кезінде соңғы элонгация циклын қосу ұсынылады. *ПТР* 6 килобазадан аз тізбекті күшейтуге мүмкіндік береді. *ПТР*

реакциясы өте жылдам, ол бірнеше сағатқа созылады (30 циклден тұратын ПТР үшін 2-3 сағат) [40].

9 - суретте ПТР схемалық сызбасы көрсетіліп тұр. Мақсатты ДНҚ тізбегінің бір көшірмесінен бастап, әр ПТР циклі (денатурация, салқындату / тазарту және ұзарту) мақсатты ДНҚ молекулаларының санын екі есе арттырады, мақсатты ДНҚ концентрациясын экспоненциалды түрде арттырады. Мақсатты ДНҚ молекулаларының саны серияда артады 1, 2, 4, 8, 16, ..., 2^n , мұндағы "n" - ПТР циклдерінің жалпы саны [41].



9-сурет: ПТР әдісінің жүру процесі

2.3 Бөлінген ДНҚ-ның концентрацияны өлшеу әдістері

ДНҚ концентрациясын анықтауда жиі қолданылатын үш әдіс бар: ультракүлгін (ультракүлгін) сіңіру, флуоресценция және дифениламин реакциясы. Қазіргі уақытта ДНҚ концентрациясын анықтаудың ең көп таралған әдісі 260 нм ультракүлгін сәуленің сіңуін өлшеу болып табылады [42]. УК сіңіру әдісінің принципі-нуклеин қышқылдары (ДНҚ немесе РНҚ) олардың пуриндік және пиримидиндік сақиналарында біріктірілген қос байланыс бар, олар 260 нм-де белгілі бір сіңіру шыңына ие, қарқындылығы нуклеин қышқылының концентрациясына пропорционалды [43]. Бұл физикалық сипаттамалар үлгідегі нуклеин қышқылының концентрациясын анықтауға мүмкіндік береді. Флуоресценция әдісі флуорометр мен ДНҚ байланыстыратын флуоресцентті бояуды қолданады, ол екі спиральді ДНҚ-мен (*dsDNA*) байланысады, содан кейін қозған кезде флуоресценцияға айналады [44]. Белгілі бір диапазонда флуоресценцияның қарқындылығы байланыстырушы бояудың мөлшеріне пропорционалды, сондықтан үлгілердегі ДНҚ концентрациясын белгілі ДНҚ концентрациясы бар анықтамалық ерітінділерден алынған стандартты қисықпен салыстыру арқылы есептеуге болады [44, 45]. Дифениламин реакция әдісінің принципі-пурин негізі мен дезоксирибоза арасындағы гликозидті байланыстың бөлінуі ДНҚ қышқыл жағдайда қызған кезде пурин негізін, 2-дезоксирибозды және дезоксирибидин нуклеотидін тудырады. Содан кейін 2-дезоксирибоз х-гидрокси-с-кето-пентозаны қалыптастыру үшін гидратталады, ол

дифениламинмен реакцияға түсіп, 595 нм-де сіңіру максимумы бар көк зат түзеді [46, 47]. Кейінірек ДНҚ концентрациясын анықтау үшін конъюгацияланған $PFPB_x$ полимері қолданылды, бірақ қазіргі уақытта ол кең таралмады [48].

2.4 Электрофорез әдісі

Электрофорез-бұл зарядталған бөлшектердің немесе молекулалардың электр өрісіне ауысуы. Бұл заттар сулы ерітіндіде болған кезде пайда болады. Зарядталған бөлшектердің ауысу жылдамдығы қолданылатын электр өрісінің күші мен молекулалардың зарядтарына байланысты. Осылайша, әртүрлі зарядталған молекулалар ауысу кезінде бөлек аймақтар түзеді. Аймақтардың диффузиясын азайту үшін электрофорез тұтқыр сұйықтық немесе гель матрицасы сияқты қарама-қарсы ортада жүзеге асырылады. Демек, ауысу жылдамдығы молекулалардың мөлшеріне де байланысты. Осылайша, заттардың қоспасын фракциялау жоғары ажыратымдылықпен жүзеге асырылады [49].

Электрофорез әдісіне керекті материалдар:

- 1) Электрофорез буфері (*TAE* немесе *TBE*)
- 2) Бромды этидий ерітіндісі
- 3) Электрофорезге арналған агароза
- 4) 10× жүктеу буфері
- 5) ДНҚ молекулалық массасының маркерлері
- 6) Көлденең гель электрофорезіне арналған құрылғы
- 7) Гель құю платформасы
- 8) Гельдік тарақтар (саңылауларды қалыптастырушылар)
- 9) Қорек көзі тұрақты ток

Әдісті жүргізу сатылары:

Гельді дайындау

Электрофорез ыдысын толтыру және гель дайындау үшін жеткілікті мөлшерде электрофорез буферін дайындау қажет (*TAE* немесе *TBE*). Электрофорез буферіне өту кезінде ДНҚ фрагменттерін бейнелеуді жеңілдету үшін этидий бромидінің ерітіндісін соңғы концентрациясына 0,5 г/мл дейін қосуға болады. Егер буфер электрофорез бен гель ыдысына бөлек дайындалса, екеуін де этидий бромидінің бірдей концентрациясын құюды ұмытпау керек.

Электрофорез үшін агароздың қажетті мөлшерін гель алу үшін жеткілікті электрофорез буферінің көлеміне қосу керек. Агарозаны микротолқынды пеште немесе автоклавта ерітіп, біркелкі араластыруды қамтамасыз ету үшін араластырады.

Гель құю платформасы ұшынан ашық болса, герметизациялайды. Ерітілген агарозаны құйып, гель тарағын салып, тарақтардың астында көпіршіктер жоқ екеніне және гель қатайғанға дейін агарозаның бетіндегі барлық көпіршіктер алынып тасталғанына көз жеткізу керек.

Гельді жүктеп, іске қосу

Гель қатайғаннан кейін, гельдік платформаның ашық ұштарынан таспаны алып тастап және үлгі тесіктерін жыртып алмауға тырысу.

Электрофорез ыдысына құрамында гель бар гель құю платформасын салу. Гельді шамамен 1 мм тереңдікке жабу үшін электрофорез үшін жеткілікті буфер қосу (немесе тесіктердің шыңдары батырылғанға дейін). Тесіктерде ауа қалталары жоқ екеніне көз жеткізу.

ДНҚ үлгілерін 10 есе жүктелетін буфердің тиісті мөлшерін қосу арқылы гель тесіктерін толтырмайтын көлемде дайындау. Үлгілерді тесіктердің арасына араластырмауға тырысып, тесіктерді тамшуырман немесе микро тамшуырман салу.

ДНҚ гелге анодқа немесе оң қорытындыға көшетін етіп түйреуіштердің бекітілгеніне көз жеткізу. Электрофорезді бастау үшін кернеуді қажетті деңгейге қойыу керек, әдетте 1-ден 10 В/см-ге дейін. Жүктеу буферінде бояғыштардың (бромфенол көк) көші-қонын визуализациялау арқылы бөлу барысын қадағалау.

Жүктеу буферінен бояу ДНҚ фрагменттерін бөлуге жеткілікті қашықтыққа көшкен кезде қуат көзін өшіру. Егер этидий бромиді гелге қосылған болса, ДНҚ-ны гелді ультракүлгін жарық көзіне қою арқылы көруге болады және оны тікелей суретке түсіруге болады [50].

2.5 Статистикалық талдау

Генотиптердің таралуы мен Аллель жиіліктеріндегі айырмашылықтардың сенімділігі Пирсон критерийі (χ^2) арқылы есептеледі, үлгілердегі байқалған генотиптердің таралуы Харди-Вайнберг теңдеуіне (*HWE*) сәйкестігі тексеріледі. Аллельдер мен генотиптердің байқалатын мәндері арасындағы байланыс дәрежесінің индикаторы ретінде ықтималдық қатынасы (odds ratio - OR), сенімділік интервалы (confidence interval – CI) пайдаланылады. Фишердің дәл сынағы генотиптік жиілік мәндері кесте ұяшықтары арасында тең бөлінбеген жағдайларда қолданылады (мысалы, егер мәндердің біреуі 6 – дан аз болса). *Microsoft Excel және Statistica 2005* бағдарламалары қолданылады [51].

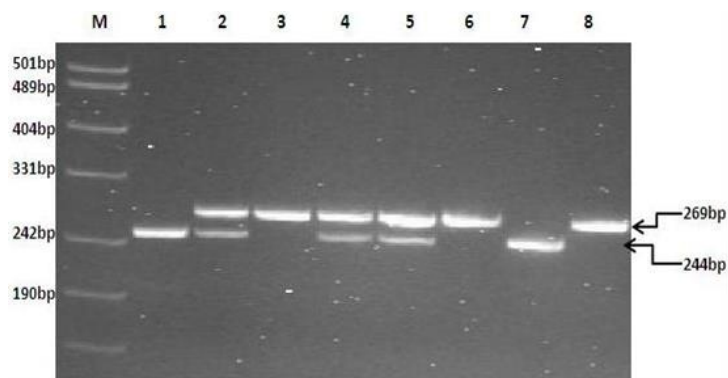
Нәтижелерді өңдеу генотиптердің таралуы мен аллель жиіліктеріндегі сенімді айырмашылықтарды анықтау үшін доминантты модельді қолдану арқылы жүзеге асырылады, сонымен қатар рецессивті модельді есептеу кезінде генотиптердің таралуындағы статистикалық сенімді айырмашылықтарды байқауға болады. СС қауіпті генотипі үшін мүмкіндік қатынасының (odds ratio – OR) мәнін де анықтауға болады. Қазақ ауру және сау топтарындағы генотиптердің таралуын Харди-Вайнберг теңдеуіне жатқызуға болады.

FGFR2 генінің полиморфизмдерінің аллельдері мен генотиптерінің мүмкін комбинацияларын талдау, сондай-ақ олардың сүт безі қатерлі ісігінің даму қаупіне кешенді әсерін бағалау "*APSampler*" алгоритмін қолдану арқылы жүргізілді.

3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ

3.1 *FGFR2* генінің rs2420946 учаскесінде полиморфизмді сынау

ПТР нәтижесінде 269 жұп нуклеотид көлеміндегі *FGFR2* генінің екінші интронының күшейтілген фрагменті пайда болады. Зерттелетін учаскеде С аллелі болған кезде *AluI* рестриктазасы үшін рестрикция сайты бар және оны жүргізгеннен кейін 244 және 25 жұп нуклеотид (ж.н) өлшемдері бар фрагменттер пайда болады. Аллель Т (рестрикция сайтының болмауы) өлшемі 269 ж.н фрагментке сәйкес келеді. 10-суретте *FGFR2* генінің rs2420946 күшейтілген бөлігін *RFLP* талдау нәтижелері келтірілген. Қазақ және орыс этникалық топтарындағы пациенттер мен бақылау арасындағы зерттелетін учаскедегі аллельдердің жиілігі мен генотиптердің таралуын салыстыру нәтижелері тиісінше 1 және 2-кестелерде келтірілген.



Жолдар: М, молекулалық салмақ белгісі, 1,7 жолақтар С аллелі үшін гомозиготалар (СС генотипі), 2,4,5 жолақтар гетерозиготалар (СТ генотипі), 3,6,8 жолақтар Т аллелі (ТТ) үшін гомозиготалар. генотипі)

10-сурет - *FGFR2* генінің күшейтілген rs2420946 фрагментінің рестрикция өнімдерінің электроферограммасы.

Жалпы тұқым қуалаушылық моделінің нәтижелерін статистикалық өңдеу үшін пайдаланған кезде қазақ этникалық тобында ауру және сау даралар арасында аллельдер мен генотиптердің таралуында айтарлықтай айырмашылықтар табылған жоқ. Доминантты модельді қолдану арқылы жүргізілген нәтижелерді өңдеуде генотиптер мен аллель жиіліктерінің таралуында айтарлықтай айырмашылықтарды анықтаған жоқ, бірақ есептеулерде рецессивті модельді пайдаланған кезде генотиптердің таралуында статистикалық маңызды айырмашылықтар байқалды ($\chi^2=4,10$; $p=0,04$). Сонымен қатар, СС қауіпті генотипі үшін мүмкіндік қатынасының мәні (odds ratio – OR) 1.65 болды (CI 1.01 – 2.69 кезінде 95%). Қазақ топтарындағы ауру және сау генотиптердің таралуы Харди-Вайнберг теңдеуіне сәйкес келді.

1 кесте - қазақ этникалық тобында *FGFR2* генінің rs2420946 полиморфизм аллельдерінің генотиптері мен жиілігінің таралуы

Аллельдер/ генотиптер	Кездесу жиілігі		OR	CI (95%)	χ^2	p
	Науқастар, n = 293	Контроль n = 189				

C	0.597	0.55	1.21	0.93 – 1.57	2.08	0.15
T	0.403	0.45	0.83	0.64 – 1.07		
CC	0.348	0.275	1.65	1.01 – 2.69	4.10	0.04
TC	0.498	0.55	0.81	0.56 – 1.17		
TT	0.154	0.175	0.86	0.52 – 1.40		

Ескертпе – p – дені сау донорлардағы олардың мәндерімен салыстырғанда көрсеткіштер айырмашылығының дұрыстығы; χ^2 – генотиптер мен гендер аллельдерінің жиілігін салыстыруға арналған Пирсонның стандартты критерийі; OR – 95% сенімділік интервалы (CI) бар сау донорлармен салыстырғанда берілген генотипте аурудың дамуының салыстырмалы қаупін көрсететін ықтималдық коэффициенті.

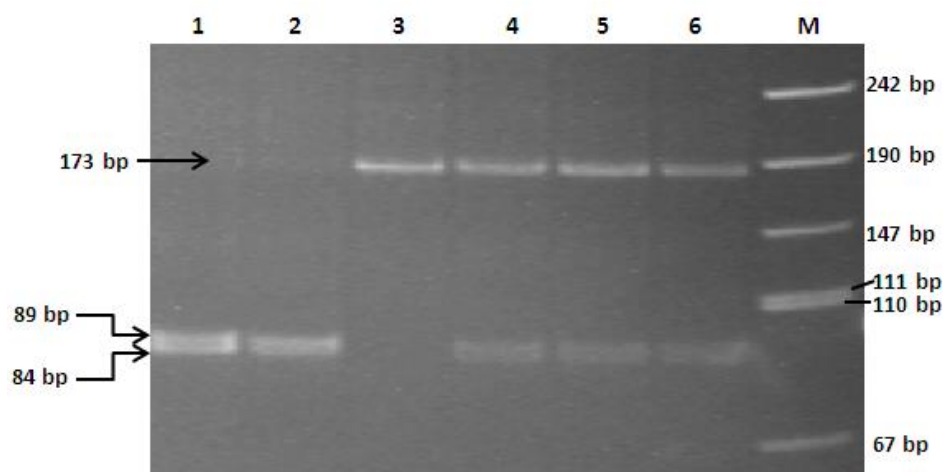
2 кесте – орыс этникалық тобындағы *FGFR2* генінің rs2420946 полиморфизмінің аллельдері мен генотиптерінің жиілігінің таралуы

Аллельдер/ генотиптер	Кездесу жиілігі		OR	CI (95%)	χ^2	p
	Науқастар, n = 174	Бақылау n = 173				
C	0.603	0.601	1.01	0.74 – 1.37	0.72	0.40
T	0.397	0.399	0.99	0.73 – 1.34		
CC	0.310	0.341	0.87	0.55 – 1.36	4.44	0.04
TC	0.586	0.52	1.31	0.85 – 2.07		
TT	0.103	0.139	0.72	0.37 – 1.37		

Орыс этникалық тобында бақылау үлгісі Харди-Вайнберг теңдеуіне сәйкес келеді ($\chi^2 = 0,72$; $p = 0,40$), бірақ науқастар үлгісінде Харди-Вайнберг теңдеуінен генотип жиіліктерінің таралуында айтарлықтай ауытқу анықталды ($\chi^2 = 4,44$; $p = 0,04$). Нәтижелерді өңдеу үшін доминантты және рецессивті тұқым қуалау үлгілерін пайдалану осы топтағы статистикалық маңызды айырмашылықтарды анықтаған жоқ.

3.2 *FGFR2* генінің rs2981578 аймағындағы полиморфизмді сынау

FGFR2 генінің фрагментін белгілі бір праймерлермен күшейту нәтижесінде 173 жұп нуклеотид мөлшері пайда болады. Ауыспалы локуста А аллелі болған жағдайда, BspACI рестрикциялау ферментінің орны болмайды, ал G аллелі болған жағдайда зерттелетін аймақта рестрикция аймағы түзіледі, ал рестрикциядан кейін 89 және 84 жұп нуклеотидтердің екі фрагменті қалыптасады. *FGFR2* генінің rs2981578 күшейтілген фрагментінің рестрикция өнімдерінің электрофорограммасы 11-суретте көрсетілген.



Жолдар: 1,2 G Аллельі бойынша гомозиготалар (генотип GG), 4,5,6 жолдар -гетерозиготалар (генотип AG), 3 жол - A аллельі бойынша гомозиготалар (генотип AA), M - молекулалық масса маркері

11 - сурет - *FGFR2* генінің rs2981578 күшейтілген фрагментінің рестрикция өнімдерінің электрофорограммасы.

Қазақ этникалық тобындағы аллельдердің генотиптері мен жиілігін бөлуді сипаттайтын деректер мен оларды статистикалық өңдеу нәтижелері 3 - кестеде, орыс этникалық тобы үшін 4 - кестеде келтірілген.

3 кесте - қазақ этникалық тобында *FGFR2* генінің rs2981578 полиморфизм аллельдерінің генотиптері мен жиілігінің таралуы.

Аллельдер/ генотиптер	Кездесу жиілігі		OR	CI (95%)	χ^2	p
	Науқастар, n = 304	Бақылау, n = 176				
A	0.465	0.460	1.02	0.78 – 1.33	0.02	0.88
G	0.535	0.540	0.98	0.75 – 1.27		
AA	0.191	0.227	0.86	0.56 – 1.32	3.11	0.21
AG	0.549	0.466	1.42	0.96 – 2.03		
GG	0.260	0.307	0.79	0.53 – 1.24		

4 кесте - орыс этникалық тобындағы *FGFR2* генінің rs2981578 полиморфизм аллельдерінің генотиптері мен жиілігінің таралуы.

Аллельдер / генотиптер	Кездесу жиілігі		OR	CI (95%)	χ^2	p
	Науқастар, n = 171	Бақылау, n = 147				
A	0.553	0.541	1.05	0.77 – 1.43	0.09	0.77
G	0.447	0.459	0.95	0.71 – 1.30		
AA	0.304	0.279	1.10	0.69 – 1.77	0.28	0.87
AG	0.497	0.524	0.91	0.58 – 1.40		
GG	0.199	0.197	1.01	0.58 – 1.76		

Қазақ және орыс этникалық топтарында *СБКІ* пациенттері мен дені сау донорлардың іріктемелері арасында аллельдер мен генотиптердің жиіліктерін

бөлуде статистикалық маңызды айырмашылықтар табылған жоқ. Сондай-ақ, дені сау орыстар мен қазақтар арасында rs2981578 вариабельді локусы бойынша этносаралық айырмашылықтар анықталды. Орыстар мен қазақтарды бір топқа біріктіру және нәтижелерді статистикалық талдау пациенттер мен бақылау тобы арасында ешқандай статистикалық маңызды айырмашылықтарды көрсеткен жоқ (аллельдер $\chi^2 = 0.01$, $p=0.94$; генотиптер $\chi^2=0.47$, $p=0.79$). Барлық зерттелген топтарда Харди-Вайнберг тепе-теңдігінен ауытқулар болған жоқ.

Алынған нәтижелер бұрын жарияланған мәліметтерден өзгеше. Сонымен, Қытай ғалымдарының жұмысында эпидемиялық деректер мен қол жетімді интернет-көздерден алынған мета-анализ деректерін жалпыланған зерттеу *FGFR2* генінің rs2981578 ауыспалы локусының AA генотипі, әсіресе Азия популяцияларында, *СБҚІ* қаупін төмендетуі мүмкін екенін көрсетті. Авторлар басқа екі полиморфизммен (rs298579 және rs11200014) бірге бұл полиморфты нұсқа *СБҚІ* қаупімен статистикалық тұрғыдан сенімді байланысты екенін анықтады. Осы зерттеуде жүргізілген эксперименттердің нәтижелері қазақтарда AA (OR=0.86; CI 95% 0.56 – 1.32) генотипінің болуы протективті рөлде болу үрдісін көрсетеді, бірақ статистикалық сенімді маңыздылықтың шекті деңгейіне жетпейді. Орыс этникалық тобында кері үрдіс анықталды және AA генотипі (OR=1.10; CI 0.69 – 1.77) протективті емес, қауіпті болуы мүмкін.

RS2981578 аймағындағы полиморфизмнің *СБҚІ*-мен ассоциациясын сипаттайтын алынған нәтижелер Қазақстан Республикасының тұрғындары арасында осы ауыспалы локус аймағында *FGFR2* генінің екінші интронының құрылымдық ұымдасуында ерекше белгілердің бар екендігін көрсетеді және көптеген әлем популяцияларынан ерекшеленеді.

Қазақстанда алғаш рет халықтың екі этникалық тобында *FGFR2* гендеріне арналған аллельдердің генотиптері мен жиіліктерін бөлу бойынша деректер алынды, ауруды ерте диагностикалау және болжау үшін *СБҚІ*-нің туындау қаупінің әлеуетті геномдық маркерлері, сондай-ақ протективті полиморфты нұсқалардың маркерлері анықталды.

5-кесте - *FGFR2*, талданатын аймақтар, праймер тізбегі, амплификация режимдері және рестрикция эндонуклеазалары.

Ген, учаске	Праймерлер	Амплификация режимі	Рестрик-таза
<i>FGFR2</i> rs2420946	F 5'-AAGCCCTCAGACGACAGAAA-3' R 5'-CTGCTCAACCTGGGATCTGT-3'	94°С – 7 мин, 35 циклов (94°С – 30 с, 57°С – 30с, 72°С – 40 с), 72°С – 7 мин	<i>AspLEI</i>
<i>FGFR2</i> rs2981578	F 5'-AATGCTGCTTTGGAGGATTG-3' R 5'-CCAGAGGACTGAAACCCACA-3'	95°С – 4 мин, 35 циклов (95°С – 30 с, 56,8°С – 35 с, 72°С – 40 с), 72°С – 5 мин	<i>BspACI</i>

ҚОРЫТЫНДЫ

Адам геномы қатерлі ісіктердің, атап айтқанда сүт безі қатерлі ісігінің пайда болуы мен дамуында маңызды рөл атқарады. Гендегі құрылымдық өзгерістердің, атап айтқанда *FGFR2* генінің болуы геннің функционалды белсенділігінің бұзылуына ықпал етуі мүмкін, бұл кез-келген теріс факторлардың әсеріне кері әсер етеді. Дамыған елдерде үміткерлердің гендерін зерттеу бойынша көптеген зерттеулер жүргізілді, олардың полиморфты алмастырулары онкологиялық аурулардың дамуымен байланысты болуы мүмкін. Алайда, әртүрлі нәсілдер мен ұлттар өкілдері арасында қатерлі ісік белгілері болып табылатын генотиптер мен аллельдердің жиілігінде этникалық айырмашылықтар бар екендігі жалпыға ортақ факт.

Осыған байланысты сүт безі обырының алдын-ала диагностикасын дамыту үшін Қазақстанның негізгі этникалық топтарында сүт безі обырының даму қаупінің жоғарылауымен байланысты орташа және төмен пенетрантты гендерінің полиморфты маркерлерін іздеуге және анықтауға бағытталған зерттеулердің маңызы зор.

Қазақстандық және ресейлік популяциялардағы *FGFR2* генін зерттеу нәтижелері Қазақстан тұрғындарының сүт безі обырының даму қаупі жоғары топтарын анықтауға бағытталған молекулярлық-генетикалық маркерлерді одан әрі дамыту үшін алдын ала негіз бола алады.

БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

EGF - Эпидермальды өсу факторы
FGFR - Фибробласттардың өсу факторының рецепторлары
FGF - Фибробласттардың өсу факторлары
СБКІ – Сүт безінің қатерлі ісігі
MAPK - Митоген белсендірілген протеинкиназа
STAT - Сигнал түрлендіргіші мен транскрипция активаторы
SNP - Бір нуклеотидті полиморфизм
PI3K - Фосфатидилинозитол-3-киназа
GWAS - Ассоциацияларды толық геномдық іздеу
ИТК - Инвазивті түтік карциномасы
TNM - Tumor, nodus және metastasis
HER2 - Адамның эпидермальды өсу факторының 2 рецепторы
DAG-PKC - Диацилглицерин / протеинкиназа с
RAF - Жылдам үдемелі фибросаркома
ER – эстроген рецепторы
MEK - Митоген белсендірілген протеинкиназа киназа
HSPG - Гепаран сульфатының протеогликандары
ПТР - Полимеразды тізбекті реакция
Ig – Иммуноглобулин домені
FRS2 - Фибробласттардың өсу факторы рецепторының субстраты 2
GRB2 - Өсу факторы рецепторымен байланысты ақуыз 2
УК - ультра күлгін
GRB2 - Өсу факторының рецепторымен байланысты ақуыз
RAF - жылдам жеделдетілген фибросаркомалар
PFPB_x - поли [(9,9-бис (6'-N,N,N-триметиламмонийбромид)гексил)флуорен-алт-1,4 фенилен]
ТАЕ - Трис-ацетатты буфер
ТВЕ - Трис-борат буфері
ТЕ - Tris және EDTA буфері
PBS - Фосфат буфері бар физиологиялық ерітінді
RFLP - Шектеу фрагментінің ұзындығының полиморфизмі

ҚОЛДАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 DeSantis C., Ma J., Bryan L., Jemal A. Breast cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 2014; 64(1): 52-62.
- 2 DeSantis C., Howlader N., Cronin K.A., Jemal A. Breast cancer incidence rates in U.S. women are no longer declining. *Cancer Epidemiol Bio-markers Prev*, 2011; 20: 733–749.
- 3 Greaney M.L., Sprunck-Harrild K., Ruddy K.J et al. Study protocol for Young & Strong: a cluster randomized design to increase attention to unique issues faced by young women with newly diagnosed breast cancer. *BMC Public Health*, 2015; 31(15): 37.
- 4 Villarreal-Garza C., Aguila C., Magallanes-Hoyos M.C., Mohar A et al. Breast cancer in young women in Latin America: an unmet, growing burden. *Oncologist*, 2013; 18(Suppl): 26–34.
- 5 Schmidt C. Immunology: another shot at cancer. *Nature*, 2015; 527(7578): S105–S107.
- 6 Adams J.U. Genetics: big hopes for big data. *Nature*, 2015; 527(7578): S108–S109.
- 7 Reyna C., Lee M.C. Breast cancer in young women: special considerations in multidisciplinary care. *J Multidiscip Healthc*, 2014; 7:419-429.
- 8 Kroman N., Jensen M.B., Wohlfahrt J., Mouridsen H.T., Andersen P.K., Melbye M. Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study. *BMJ*, 2000; 320 (7233): 474-478.
- 9 Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58 209 women with breast cancer and 101 986 women without the disease. *Lancet*, 2001; 358: 1389–99.
- 10 Helsten T., Schwaederle M., Kurzrock R. Fibroblast growth factor receptor signaling in hereditary and neoplastic disease: biologic and clinical implications. *Cancer Metastasis Rev.*, 2015; 34(3): 479-496.
- 11 Knights V. and Cook S.J. De-regulated FGF receptors as therapeutic targets in cancer. *Pharmacol Ther*, 2010; 125(1): 105–117.
- 12 Olsen S.K., Ibrahimi O.A., Raucci A., et al. Insights into the molecular basis for fibroblast growth factor receptor autoinhibition and ligand-binding promiscuity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101(4): 935–940.
- 13 Eswarakumar V.P., Lax I., Schlessinger J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2005; 16(2): 139-149.
- 14 Ornitz D.M., Herr A.B., Nilsson M., et al. FGF binding and FGF receptor activation by synthetic heparan-derived diand trisaccharides. *Science*, 1995; 268(5209): 432–436.
- 15 Kim I., Moon S., Yu K., et al. A novel fibroblast growth factor receptor-5 preferentially expressed in the pancreas. *Biochim Biophys Acta*, 2001; 1518(1–2): 152–156.

- 16 Wang S., Ding Z. Fibroblast growth factor receptors in breast cancer. *Tumour Biol.*, 2017; 39(5): 104-116
- 17 Haugsten E.M., Wiedlocha A., Olsnes S., et al. Roles of fibroblast growth factor receptors in carcinogenesis. *Mol Cancer Res*, 2010; 8(11): 1439–1452.
- 18 Powers C.J., McLeskey S.W. and Wellstein A. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. *Endocr Relat Cancer*, 2000; 7(3): 165–197.
- 19 Burke D., Wilkes D., Blundell T.L., et al. Fibroblast growth factor receptors: lessons from the genes. *Trends Biochem Sci*, 1998; 23(2): 59–62.
- 20 Brooks A.N., Kilgour E. and Smith P.D. Molecular pathways: fibroblast growth factor signaling: a new therapeutic opportunity in cancer. *Clin Cancer Res*, 2012; 18(7): 1855–1862.
- 21 P.Pichierri, A.Franchitto, F.Palitti, Predisposition to cancer and radiosensitivity, 2000.
- 22 Easton D.F., Pooley K.A., Dunning A.M., et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature*, 2007; 447(7148): 1087–1093.
- 23 Hunter D.J., Kraft P., Jacobs K.B., et al. A genome-wide association study identifies alleles in *FGFR2* associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer. *Nat Genet*, 2007; 39(7): 870–874.
- 24 Adnane J., Gaudray P., Dionne C.A., et al. BEK and FLG, two receptors to members of the FGF family, are amplified in subsets of human breast cancers. *Oncogene*, 1991; 6(4): 659–663.
- 25 Turner N. and Grose R. Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nat Rev Cancer*, 2010; 10(2): 116–129.
- 26 Garcia-Closas M., Hall P., Nevanlinna H., et al. Heterogeneity of breast cancer associations with five susceptibility loci by clinical and pathological characteristics. *PLoS Genet*, 2008; 4(4): e1000054.
- 27 Reintjes N., Li Y., Becker A., et al. Activating somatic *FGFR2* mutations in breast cancer. *PLoS ONE*, 2013; 8(3): e60264.
- 28 Dionne C.A., Crumley G., Bellot F., et al. Cloning and expression of two distinct high-affinity receptors cross-reacting with acidic and basic fibroblast growth factors. *EMBO J.*, 1990; 9(9): 2685-2692.
- 29 Miki T., Fleming T.P., Bottaro D.P., Rubin J.S., Ron D., Aaronson S.A. Expression cDNA cloning of the KGF receptor by creation of a transforming autocrine loop. *Science*, 2015; 251(4989): 72-75.
- 30 Carstens R.P., Wagner E.J., Garcia-Blanco M.A. An intronic splicing silencer causes skipping of the IIIb exon of fibroblast growth factor receptor 2 through involvement of polypyrimidine tract binding protein. *Mol Cell Biol.*, 2014; 20(19): 7388-7400.
- 31 Katoh M., Katoh M. *FGFR2* and *WDR11* are neighboring oncogene and tumor suppressor gene on human chromosome 10q26. *Int J Oncol.*, 2003 ;22(5): 1155-1159.

32 Dailey L., Ambrosetti D., Mansukhani A., Basilico C. Mechanisms underlying differential responses to FGF signaling. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2005; 16(2): 233-247.

33 Santolla M.F., Maggiolini M. The FGF/FGFR System in Breast Cancer: Oncogenic Features and Therapeutic Perspectives. *Cancers (Basel)*, 2020; 12(10): 3029.

34 Riemann K., Adamzik M., Frauenrath S., et al. Comparison of manual and automated nucleic acid extraction from whole-blood samples. *J Clin Lab Anal.*, 2007; 21(4): 244-248.

35 <https://www.thermofisher.com/ca/en/home/references/protocols/nucleic-acid-purification-and-analysis/dna-extraction-protocols.html>.

36 Kadri, Karim. "Polymerase Chain Reaction (PCR): Principle and Applications". *Synthetic Biology - New Interdisciplinary Science*, edited by Madan Nagpal et al, IntechOpen, 2019; 10.5772/intechopen.86491.

37 Lo Y.M., Chan K.C. Introduction to the polymerase chain reaction. *Methods Mol Biol*, 2006; 336: 1-10.

38 Pelt-Verkuil E., Belkum A., John P. A brief comparison between in vivo DNA replication and in vitro PCR amplification. *Principles and Technical Aspects of PCR Amplification*. Netherlands: Springer; 2008; pp. 9-15.

39 Polymerase Chain Reaction (PCR). National Center for Biotechnology Information. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techpcr/>.

40 Kadri, Karim. "Polymerase Chain Reaction (PCR): Principle and Applications". *Synthetic Biology - New Interdisciplinary Science*, edited by Madan Nagpal et al, IntechOpen, 2019; 10.5772/intechopen.86491.

41 Waters D.L., Shapter F.M. The polymerase chain reaction (PCR): general methods. *Methods Mol Biol.*, 2014; 1099: 65-75.

42 ISO 21571, Foodstuffs—Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - Nucleic acid extraction, 2005.

43 Ogur M., Rosen G. The nucleic acids of plant tissues; the extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. *Arch Biochem.*, 1950; 25(2): 262-276.

44 Ahn S.J., Costa J., Emanuel J.R. PicoGreen quantitation of DNA: effective evaluation of samples pre- or post-PCR. *Nucleic Acids Res.*, 1996; 24(13): 2623-2625.

45 Singer V.L., Jones L.J., Yue S.T., Haugland R.P. Characterization of PicoGreen reagent and development of a fluorescence-based solution assay for double-stranded DNA quantitation. *Anal Biochem.*, 1997; 249(2): 228-238.

46 Ganguli P.K. A sensitive procedure for the estimation of deoxyribonucleic acid by the diphenylamine reaction in the presence of cupric sulfate. *Rev Can Biol.*, 1970; 29(4): 339-346.

47 Richards G.M. Modifications of the diphenylamine reaction giving increased sensitivity and simplicity in the estimation of DNA. *Anal Biochem.* 2008; 57(2): 369-376.

48 Hong J.W., Wilhelm L. Hemme, Gretchen E. Keller, Matthias T. Rinke and Guillermo C. Bazan. Conjugated polymer/DNA interpolyelectrolyte complexes for

accurate DNA concentration determination, *Advanced Materials* 18, 2006; pp 878–882.

49 Westermeier R., Marouga R. Protein detection methods in proteomics research. *Biosci Rep.*, 2005; 25(1-2): 19-32.

50. Voytas D. Agarose gel electrophoresis. *Curr Protoc Immunol.*, 2001; Chapter 10.

51 Favorov A.V., Andreewski T.V., Sudomoina M.A., Favorova O.O., Parmigiani G., Ochs F. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans // *Genetics*. – 2005. – Vol.171. – P. 2113 – 2121.

Satbayev University, химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасының 4 курс студенті Болтаев Сағыныш Сериковичтің «Сүт безі қатерлі ісігі мен *FGFR2* гендік полиморфизімінің ассоциациясын табу» атты жұмысына

Ғылыми кеңесшісі Белкожаев Аяз Маратовичтің

ПІКІРІ

Соңғы он жылдықта сүт безі қатерлі ісігі әйелдер арасында ең көп таралған қатерлі ісік болып табылады. Геномдық зерттеулер көрсеткендей, *FGFR2* гені сүт безі қатерлі ісігінің қаупімен тығыз байланысты. Молекулалық-биологиялық әдістер адам геномын декодтау арқылы қазіргі уақытта канцерогенез механизмдерін зерттеудің қажетті және тез дамып келе жатқан құрамдас бөлігіне айналуға. Сондықтан сүт безі қатерлі ісігінің дамуындағы *FGFR2* генін зерттеу өзекті тақырып болып табылады.

Болтаев Сағыныш Серикович 2018 жылы Satbayev University, химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасына «5B070100-Биотехнология» мамандығы бойынша бакалавриатқа оқуға түскен. Сағыныш Серикович 2021-2022 оқу жылының басынан М.Ә. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институтында қолданылатын молекулалық және биохимиялық әдістермен танысып, практикадан өтті. Институттағы жобалардың мақсат міндеттерімен танысып, өзіне берілген тапсырмаларды жауапкершілікпен орындады. Сағыныш Сериковичтің молекулалық биология және биохимия бағытына деген ынтасы өте жоғары екенін көрсете білді, болашақта осы бағытта магистратураға түсіп ғылым жолын жалғастыруға ниетті.

Студент дипломдық зерттеу жұмысын жазу барысында Satbayev University-нің химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасының меңгерушісі Амитова А.А. жетекшілігімен әдебиетке шолу барысына және диплом жазу қағидаларымен өзара жұмыс жасады.

Болтаев Сағыныш Сериковичтің зерттеу жұмысы толығымен аяқталып, тақырып бойынша халықаралық конференцияларда тезисі жарық көрген. Дипломдық жұмысы заманауи молекулалық әдістерді қолдана отырып, талаптарға сай жазылған. Студенттің жұмысын «5B070100-Биотехнология» мамандығы бойынша бакалавр дәрежесін алуға лайықты деп санаймын.

**Ғылыми кеңесшісі:
Satbayev University-нің Химиялық
және Биохимиялық инженерия
кафедрасының тьюторы, М.Ә. Айтхожин
атындағы МБЖБ институтының**

ғылыми қызметкері



Белкожаев А.М.

Satbayev University, химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасының 4 курс студенті Болтаев Сағыныш Сериковичтің «Сүт безі қатерлі ісігі мен *FGFR2* гендік полиморфизімінің ассоциациясын табу» атты жұмысына

РЕЦЕНЗИЯ

Болтаев Сағыныш Серикович 2018 жылы Satbayev University, химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасына «5B070100-биотехнология» мамандығы бойынша бакалавриатқа оқуға түсті. «Сүт безі қатерлі ісігі мен *FGFR2* гендік полиморфизімінің ассоциациясын табу» тақырыбындағы дипломдық жұмысын М.Ә. Айтхожин атындағы молекулярлық биология және биохимия институтында ғылыми қызметкер Белкожаев Аяз Маратовичтің жетекшілігімен «құрылымдық және функциональдық геномика» лабораториясында зерттеу жұмысын орындады. Сонымен қатар Satbayev University-нің химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасындағы меңгерушісі Амитова А.А. жетекшілігімен әдебиетке шолу барысына және диплом жазу қағидаларымен өзара жұмыс жасады.

Қазақ және орыс популяцияларында аллельдердің кездесу жиілігімен генотиптердің таралуы ерекшеліктерін зерттей отырып, нақты статистикалық мәліметтер алынды. Рецессивті модельді пайдаланған кезде қазақ тобында *FGFR2* генінің rs2420946 учаскесінде генотиптердің таралуында статистикалық маңызды айырмашылықтар байқалды ($\chi^2=4,10$; $p=0,04$). Сонымен қатар, СС қауіпті генотипі үшін мүмкіндік қатынасының мәні $OR=1.65$ болды (CI 1.01 – 2.69 кезінде 95%). Орыс этникалық тобында бақылау үлгісінде Харди-Вайнберг теңдеуіне сәйкес келеді ($\chi^2 =0,72$; $p=0,40$), бірақ наукастар үлгісінде Харди-Вайнберг теңдеуінен генотип жиіліктерінің таралуында айтарлықтай ауытқу анықталды ($\chi^2 =4,44$; $p=0,04$).

Қазақстандық және ресейлік популяциялардағы *FGFR2* генін зерттеу нәтижелері Қазақстан тұрғындарының сүт безі обырының даму қаупі жоғары топтарын анықтауға бағытталған молекулярлық-генетикалық маркерлерді одан әрі дамыту үшін алдын ала негіз бола алады. С.С. Болтаевтің бітіру жұмысы барысында нақтылы нәтижелерге қол жеткізген. Жұмыс ұқыпты орындалған. Берілген тақырыпқа сай әдеби шолу жазылған.

Жұмыс теориялық және методикалық деңгейде жақсы жазылған, алған нәтижелер ғылыми және практикалық жағынан маңызды. С.С. Болтаевтің зерттеу жұмысының орындалуы мен алған нәтижелерін өте жақсы деп бағалаймын.

Рецензент:
Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-ның
Биология және биотехнология факультеті
биотехнология кафедрасы



Атамбаева Ш.А.

Метаданные

Подразделение
ИГИНГД

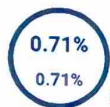
Список возможных попыток манипуляций с текстом

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще всего характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		2
Интервалы		0
Микропробелы		0
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		4

Объем найденных подоби

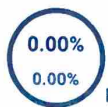
Обратите внимание! Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.



КП1

25

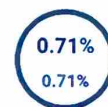
Длина фразы для коэффициента подобия 2



КП2

5335

Количество слов



КЦ

41214

Количество символов

Подобия по списку источников

Просмотрите список и проанализируйте, в особенности, те фрагменты, которые превышают КП №2 (выделенные жирным шрифтом). Используйте ссылку «Обозначить фрагмент» и обратите внимание на то, являются ли выделенные фрагменты повторяющимися короткими фразами, разбросанными в документе (совпадающие сходства), многочисленными короткими фразами расположенные рядом друг с другом (парафразирование) или обширными фрагментами без указания источника («криптоцитаты»).

10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	ЦВЕТ ТЕКСТА
1	<it>TNRC9</it> rs12443621 and <it>FGFR2</it> rs2981582 polymorphisms and breast cancer risk Łukasz Gwoździński,	15	0.28 %
2	Дипломная работа Құайын Дина ..doc 16.05.2020 Satbayev University (ИХиБТ)	11	0.21 %
3	<it>TNRC9</it> rs12443621 and <it>FGFR2</it> rs2981582 polymorphisms and breast cancer risk Łukasz Gwoździński,	6	0.11 %
4	Астаксантин өндірісі үшін Haematococcus pluvialis биомассасын алу 22.04.2019 Satbayev University (ИХиБТ)	6	0.11 %

из базы данных RefBooks (0.39 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
Источник: Paperity			
1	<it>TNRC9</it> rs12443621 and <it>FGFR2</it> rs2981582 polymorphisms and breast cancer risk Łukasz Gwoździński,	21 (2)	0.39 %

из домашней базы данных (0.32 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	Дипломная работа Құайын Дина ..doc 16.05.2020 Satbayev University (ИХИБТ)	11 (1)	0.21 %
2	Астаксантин өндірісі үшін Haematococcus pluvialis биомассасын алу 22.04.2019 Satbayev University (ИХИБТ)	6 (1)	0.11 %

из программы обмена базами данных (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
------------------	----------	---	--

из интернета (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
------------------	--------------	---	--

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	------------	---

АНДАТПА

«Сүт безі қатерлі ісігі мен FGFR2 гендік полиморфизімінің ассоциациясын табу» атты дипломдық жұмыс 31 беттен, оның ішінде 5 кесте, 11 суреттен және келесідей құрамдас бөліктерден: Кіріспе; 3 бөлімнен; қорытындыдан; белгілер мен қысқартулардан және 51 атаудан тұратын ғылыми мақалалар мен оқу құралдары көрсетілген тізімнен тұрады.

Мақсаты: FGFR2 гені мен сүт безінің қатерлі ісігі арасындағы гендік полиморфизмін зерттеу.

Дипломдық жұмыста сүт безінің қатерлі ісігінің таралуы, FGFR2 гені жайлы түсінік, оның функциясы және СБҚІ-мен байланысы мен механизмі көрсетілген. Сүт безі қатерлі ісігі қатерлі - ісік ауруларының ең көп таралған түрі және бүкіл әлемдегі әйелдерде қатерлі ісік ауруынан болатын өлімнің негізгі себебі болып табылады. Фибробласттардың есу факторы 2 (FGF2) рецепторларының локусы ассоциациялардың тәуелсіз жалпы геномдық зерттеулерінде сүт безі қатерлі ісігінің даму қаупі ретінде дәйекті түрде анықтады. Алайда, FGFR2 арқылы тәуекелдің негізіндегі молекулалық механизмдер әлі белгісіз. Модельдік жүйелерді қолдана отырып, FGFR2-мен реттелетін гендер көбінесе сүт безі қатерлі ісігінің қауіпті локусымен байланысты екені көрсетілген.

Түйін сөздер: FGFR2 гені, сүт безінің қатерлі ісігі, гендік полиморфизм.

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа «Поиск ассоциации полиморфиза рака молочной железы и гена FGFR2» состоит из 31 страниц, в том числе 5 таблиц, 11 рисунков и списка с указанием научных статей и учебных пособий 51 наименование, включающих введение; 3 раздела; заключение; признаки и сокращения.

Цель: изучить полиморфизм генов между геном FGFR2 и раком молочной железы.

В дипломной работе представлены понятие о распространенности рака молочной железы, гене FGFR2, его функции и механизм связи с РМЖ. Рак молочной железы является наиболее распространенной формой рака и является основной причиной смерти от рака у женщин во всем мире. Лocus рецепторов фактора роста фибробластов 2 (FGF2) последовательно идентифицировался как риск развития рака молочной железы в независимых общих геномных исследованиях ассоциаций. Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе риска через FGFR2, пока неизвестны. Показано, что гены, регулируемые FGFR2 с использованием модельных систем, часто связаны с локусом риска рака молочной железы.