БАЯНДЫ ГҮЛШАТ АСХАТҚЫЗЫНЫҢ

«8D05105-Биотехнология» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін ұсынылған **«Құтыру вирусына қарсы наноантиденелерді алу және сипаттау»** тақырыбындағы диссертациялық жұмысына

АҢДАТПА

Диссертациялық жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс құтыру вирусына қарсы жаңа биологиялық препараттарды әзірлеуге бағытталған. Зерттеу барысында адамның XVIII типті коллагенінің тримеризация домені негізінде құтыру вирусының гликопротеинінің рекомбинантты тримерлік формасы құрастырылып, оның иммуногенділік және қорғаныс қасиеттері анықталды. Фаг-дисплей технологиясының көмегімен құтыру вирусының гликопротеиніне спецификалық наноантиденелер алынып, олардың димерлі және тримерлі формалары конструкцияланды.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Құтыру – орталық жүйке жүйесін зақымдайтын аса қауіпті вирустық инфекция. Дүниежүзі бойынша құтыру 150-ден астам елдер мен аумақтарда эндемиялық ауру болып саналады. Бұл ауру жыл сайын шамамен 8,6 млрд АҚШ доллары көлемінде экономикалық шығынға әкеліп, 60 000-нан астам адамның өмірін қияды (оның 96%-ы Азия мен Африка елдеріне тиесілі). Құтырудың қауіптілігі - қазіргі уақытқа дейін оны тиімді емдеу әдісінің болмауымен және аурудың өліммен аяқталуымен байланысты.

Адамдар арасындағы құтыру Қазақстан Республикасының қоғамдық денсаулық сақтау саласына да едәуір қауіп тудырады. Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің мәліметі бойынша, 2025 жылы елімізде өліммен аяқталған құтырудың 3 жағдайы тіркелген, ал 2024 жылы мұндай жағдайлар анықталмаған. Жануарлардың тістеуі, тырнауы немесе сілекейінің жұғуына байланысты 2025 жылы 60 153 адам, ал 2026 жылдың бірінші тоқсанында 14 134 адам медициналық көмекке жүгінген. Қазақстан аумағында құтырудың табиғи ошақтары сақталған және жануарлар арасында ауру жағдайлары тіркеліп отырады. Осыған байланысты құтырудың алдын алу шараларын жетілдіру және инфекцияға қарсы тиімді биологиялық препараттарды әзірлеу өзекті мәселе болып қала береді.

Құтырудың спецификалық профилактикасы вакциналар мен антирабиялық иммуноглобулиндерді қолдануға негізделген. Алайда жанама әсерлердің даму қаупі, донорлық материалға тәуелділік, жоғары құны және қолжетімділігінің шектеулілігі дәстүрлі иммуноглобулиндерді кеңінен қолдануды шектейді. Осыған байланысты Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы құтырудың алдын алуға арналған балама биологиялық препараттарды әзірлеуді ұсынады.

Наноантиденелер жоғары спецификалығы, тұрақтылығы, ерігіштігі және тіндерге жақсы ену қабілетіне байланысты вирустық инфекцияларға қарсы перспективалы биологиялық агенттер ретінде қарастырылады. Оларды гендік инженерия әдістерімен әртүрлі форматта алу мүмкіндігі наноантиденелердің функционалдық қасиеттерін жетілдіруге мүмкіндік береді. Осыған байланысты

құтыру вирусына қарсы жоғары спецификалы наноантиденелерді алу және олардың қорғаныс белсенділігін зерттеу өзекті ғылыми бағыт болып табылады.

Зерттеу нысаны: rRABV-GE және rRABV-G-XVIII белоктары, құтыру вирусының гликопротеиніне спецификалы және оны бейтараптандыруға қабілетті рекомбинантты наноантиденелер.

Зерттеу пәні: құтыру вирусының гликопротеинінің тримерлік құрылымының иммуногендік қасиеттері, наноантиденелердің антигенге спецификалылығы, аффинділігі және вирусқа қарсы бейтараптандырушы белсенділігі.

Зерттеу мақсаты: адам XVIII коллагенінің тримеризация домені негізінде құтыру гликопротеинінің (RABV-G) рекомбинантты тримерлік формасын құрастыру және оның тиімділігін *in vitro* және *in vivo* жағдайларында бағалау. Құтыру вирусын тиімді бейтараптандыруға арналған жаңа наноантиденелерді әзірлеу және олардың биологиялық белсенділігін бағалау.

Зерттеу міндеттері:

1. RABV-G эктодоменінің мономерлі (rRABV-GE) және тримерлі (rRABV-G-XVIII) формаларын кодтайтын рекомбинантты гендерді құрастыру.

2. *E. coli* жүйесінде rRABV-GE және rRABV-G-XVIII белоктарының функционалды экспрессиясын жүзеге асыру және рекомбинантты белоктарды таза күйде бөліп алу.

3. rRABV-GE және rRABV-G-XVIII белоктарының иммуногенділігі мен вирусқа қарсы қорғаныс белсенділігін *in vitro* және *in vivo* жағдайларда бағалау.

4. RABV-G-XVIII рекомбинантты белогына спецификалық наноденелердің (VHH) кДНҚ кітапханасын фагтық дисплей әдісі негізінде құрастыру және вирусқа спецификалық фаг клондарын селекциялау.

5. RABV-G-XVIII рекомбинантты белогына спецификалық ди- және тримерлік наноденелерді алу.

6. Моно-, ди- және тримерлік наноденелердің сипаттамасы және олардың вирусқа қарсы қорғаныс белсенділігін *in vitro* және *in vivo* жағдайларда бағалау.

Зерттеу әдістері: гендерді бөліп алу және клондау, кері транскрипция (ОТ), полимеразды тізбекті реакция (ПТР), иммунды-ферменттік талдау (ИФА), рестрикциялық талдау, гельдік электрофорез, аффинді және гель-фильтрациялы хроматография, антиденелерді алу және тазарту, Вестерн-блоттинг, биопэннинг, вирусты нейтрализациялау реакциясы.

Жұмыстың ғылыми жаңалығы:

- Алғаш рет адамның XVIII типті коллагенінің тримерлену домені негізінде құтыру вирусы гликопротеинінің тримерлі рекомбинантты формасы rRABV-G-XVIII құрастырылып, *E. coli* SHuffle жүйесінде экспрессияланды және жоғары тазалықта бөлініп алынды.

- rRABV-G-XVIII ақуызының жоғары иммуногендік және қорғаныш қасиеттері анықталды. Адъювантсыз жағдайда иммундау кезінде rRABV-G-XVIII тышқандарда вирусқа спецификалық антиденелік жауап қалыптастырып, құтыру вирусының өлімге әкелетін дозасына қарсы толық қорғаныш қамтамасыз етті.

- Алғаш рет RABV-G-XVIII антигенімен иммундалған дромедар түйелерінің кДНҚ кітапханасынан құтыру вирусына спецификалық наноантиденелер алынып, олардың димерлі және тримерлі формалары құрастырылды. Мономерлі, димерлі және тримерлі наноантиденелердің биологиялық белсенділігі салыстырылып, тримерлі форманың *in vivo* жағдайда құтыру вирусының өлімге әкелетін дозасына қарсы 100% қорғаныш қамтамасыз ететіні анықталды.

Жұмыстың практикалық құндылығы: зерттеу нәтижелері құтыру вирусына қарсы жаңа буындағы рекомбинантты вакциналарды, терапиялық наноантиденелерді және жоғары сезімтал диагностикалық тест-жүйелерді әзірлеуге ғылыми-практикалық негіз болады. Құрастырылған rRABV-G-XVIII рекомбинантты антигені құтыруға қарсы тиімді суббірлікті вакциналарды жасау үшін перспективалы кандидат ретінде ұсынылады. Ал тримерлі наноантиденелердің *in vivo* жағдайында жоғары қорғаныш белсенділік көрсетуі оларды құтырудың постэкспозициялық профилактикасы мен терапиясында қолдануға мүмкіндік береді.

Жұмыстың теориялық құндылығы: зерттеу жұмысы құтыру вирусының гликопротеинінің (RABV-G) құрылымдық ұйымдасуы мен оның иммуногендік қасиеттері арасындағы өзара байланысты терең түсінуге үлес қосады. Алынған нәтижелер антигеннің тримерлік конформациясының иммундық жауапты қалыптастырудағы және күшейтудегі маңызды рөлін дәлелдей отырып, құрылымдық иммунология және вирусология салаларындағы теориялық білімді толықтырады. Дромедар түйелерінен алынған наноантиденелердің мономерлі, димерлі және тримерлі формаларының салыстырмалы зерттелуі наноантиденелердің мультимерленуінің олардың биологиялық белсенділігіне әсері туралы жаңа ғылыми мәліметтер береді.

Қорғауға ұсынылған диссертацияның негізгі қағидалары:

1. Адам коллагенінің XVIII тримерлеу доменімен біріктірілген rRABV-G-XVIII конструкциясы алғаш рет *E. coli* SHuffle экспрессиялық жүйесінде экспрессияланып, таза күйде бөлініп алынды.

2. RABV-G-XVIII анитиген ретінде иммуногенділігі мен тиімділігі тұрғысынан rRABV-GE рекомбинантты белогынан жоғары екені дәлелденді. RABV-G-XVIII тұрақты тримерлі форма түзіп, жоғары деңгейде гуморальды иммундық жауаптарды тудырыды.

3. Адъювантсыз RABV-G-XVIII анитигенін енгізу вирусты бейтараптандыратын жоғары аффинді антиденелерді тудырды және барлық тышқандарды құтыру вирусының өлімге әкелетін дозасынан толық қорғайды.

4. Құтыру вирусына қарсы наноантиденелер фаг дисплей әдісін пайдаланып RABV-G-XVIII антигенімен иммундалған дромедар түйелердің (*Camelus dromedarius*) кДНҚ кітапханасынан бөлініп алынды және сипатталды.

5. Наноантиденелердің вирусты бейтараптандыратын әсерін күшейту үшін наноантиденелердің димерлі және тримерлі формалары жасалды, бұл олардың вирусқа қатысты аффинділігін айтарлықтай арттырды.

6. Алынған мономерлі, димерлі және тримерлі наноденелер алғаш рет салыстырмалы түрде зерттеліп, тримерлі форманың *in vivo* жағдайында құтыру вирусының өлімге әкелетін дозасынан 100% қорғанысты қамтамасыз ететіні дәлелденді. Бұл олардың терапиялық мақсатта қолданылу потенциалының жоғары деңгейде екенін көрсетеді.

Негізгі ғылыми жұмыстың жоспарымен байланысы. Диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігі Ғылым комитетінің 2022–2024 жылдарға арналған гранттық қаржыландыру бағдарламасы аясында жүзеге асырылған AP14870256 «Құтыру вирусын тиімді бейтараптандыруға және оны жедел анықтауға арналған жоғары спецификалық әрі сезімтал реагент ретінде қолдануға бағытталған жаңа наноантиденелерді әзірлеу» жобасы шеңберінде орындалды.

Докторанттың әрбір басылымды дайындауға қосқан жеке үлесі: ғылыми әдебиеттерге шолу, эксперименттерді жоспарлау және жүргізу, алынған деректерді жинау, оларды түсіндіру және статистикалық өңдеу, сондай-ақ нәтижелерді талқылау мен сипаттау жұмыстарын жеке өткізді.

Ғылыми-зерттеу жұмысының апробациясы. Диссертациялық жұмыстың материалдары келесі ғылыми конференцияларда баяндалып, талқыланды:

- Халықаралық «Генетика және физиология: өткені, бүгіні, болашағы» атты ғылыми-практикалық конференциясы (27-30 мамыр, Алматы 2025);
- Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» атты халықаралық ғылыми конференциясы (3–5 сәуір, Алматы, 2025);
- Биотехнология және биомедициналық зерттеулер бойынша 2-ші халықаралық конференциясы (9-10 сәуір, Манила, Филиппины, 2025);
- «Профессор Р. Ділбархановтың 80 жылдығына арналған A ANaMed Forum – New Generation 2025 шеңберіндегі «Фармацияның ғылыми мектебін қалыптастыру және дамыту перспективалары: ұрпақтар сабақтастығы» VII Халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы (Алматы, 4-5 маусым 2025 жыл).

Жарияланымдар.

1. Баянды Г.А., Ахметсадыков Н.Н., Бисенбаев А.К. Молекулярно-генетическая характеристика вируса бешенства, патогенез и достижения в диагностике и разработке средств борьбы // Вестник КазНУ, серия биологическая, - 2023. – Том 95, №2. – С.4-20. https://doi.org/10.26577/eb.2023.v95.i2.01.

2. Smekenov, I.; Bayandy, G.; Alybayev, S.; Baltakhozha, N.; Batanova, Z.; Akhmetsadykov, N.; Bissenbaev, A. Immunogenicity and Antigenicity of the Recombinant Ectodomain of Rabies Virus Glycoprotein Containing the Human Collagen XVIII Trimerization Domain // Vaccines 2025, 13, 971. https:// doi.org/10.3390/vaccines13090971

3. Bitanova E.Zh., Akhmetsadykov N.N., Abdraimova Zh.A., Batanova Zh.N., Baikara B.T., Bayandy G.A., Krykbayev Y.A.1, Nurmuhambetova A.B., Imanbekova T.A. Methods of anti-rabic immunoglobulin production // Фармация Казахстана,

экспериментальная медицина, 2024, 287.
https://doi.org/10.53511/pharmkaz.2024.46.70.034.

4. Bayandy G.A., Baltakhozha N.B., Sailauova G.N., Nurpeis K.B., Smekenov I.T., Bissenbaev A.K. // Production of the Soluble Form of the Rabies Virus Glycoprotein Ectodomain as a Subunit Vaccine Candidate. Журнал International Journal of Biology and Chemistry 2025, 18, №2, 4-14 Б. https://doi.org/10.26577/IJBCh20251821