

Краткая информация о проекте

Наименование	АР09259735 «Разработка и оценка химерных эндолизинов бактериофагов для борьбы с множественно лекарственно-устойчивыми грамотрицательными патогенами осетровых рыб» (0121РК00302)
Актуальность	<p>Осетровые рыбы принадлежат к числу наиболее древних видов рыб, они относятся к долгоживущим рыбам, позднего полового созревания и имеют значительную экономическую ценность как источники животного белка, включая икру и мясо. В настоящее время из-за большого количества незаконных уловов, загрязнения воды и разрушения среды обитания, виды осетровых находятся на грани полного вымирания. Выращивание осетровых в аквакультуре является одним из важных действий, направленных на решение проблемы сокращения популяции и восстановления почти прерванного жизненного цикла видов осетровых. Однако быстрое развитие аквакультуры сопровождается вспышками заболеваний, вызванных бактериальной инфекцией, которые приводят к высокой смертности и катастрофическим экономическим потерям в аквакультуре осетровых. Наиболее тяжелыми бактериальными заболеваниями у осетровых в аквакультуре являются инфекции, вызываемые с <i>Pseudomonas</i> и <i>Aeromonas</i>. В настоящее время из-за широкого и часто неконтролируемого использования антибиотиков количество бактерий, устойчивых к антибиотикам, резко возросло и является основной причиной заболеваемости и смертности. Это явление может не только привести к неудаче антимикробной терапии, но и вызвать опасения относительно безопасности рыбных продуктов. По этой причине срочно необходимы новые стратегии борьбы с этими лекарственно-устойчивыми патогенами.</p> <p>В настоящее время эндолизиновая терапия считается очень перспективной альтернативой лечения сложных инфекций. Эндолизины являются ферментами, кодируемыми фагами, которые обладают пептидогликан гидролазной активностью и поэтому способны разрушать клеточную стенку бактерий, позволяя фагу покинуть клетку-хозяина после репликации. В отличие от антибиотиков и бактериофагов, бактериальные штаммы не развивают устойчивость к эндолизинам.</p> <p>За последние десять лет область исследований эндолизина значительно ускорилась. Некоторые эндолизины, разработанные различными компаниями, включая химерные эндолизины, в первую очередь против грамположительных и грамотрицательных патогенов человека и животных, в настоящее время находятся на стадии доклинических и клинических испытаний. Однако, потенциал эндолизинов в качестве антибактериальных агентов еще не изучен в области аквакультуры, хотя культивируемые рыбы, как и другие животные и люди, постоянно находятся под угрозой микробных атак.</p> <p>Представленный проект направлен на разработку новых эффективных химерных эндолизинов с повышенной литической активностью в отношении грамотрицательных и устойчивых к</p>

	антибиотикам бактерий, которые являются основной причиной заболеваний осетровых в аквакультуре.
Цель	Исследование терапевтического потенциала родительских и конструированных химерных эндолизинов с повышенной литической активностью против грамотрицательных бактерий <i>P. fluorescens</i> , <i>P. putida</i> , <i>A. hydrophila</i> , <i>A. salmonicida</i> и <i>A. sobria</i> .
Задачи	<ol style="list-style-type: none"> 1. Выделение и физиологическая, биохимическая, молекулярная идентификация бактериальных патогенов <i>P. putida</i>, <i>P. fluorescens</i>, <i>A. hydrophila</i>, <i>A. salmonicida</i> и <i>A. sobria</i> из зараженных осетровых рыб. 2. Конструирование химерных эндолизинов с повышенной литической активностью в отношении бактериальных патогенов, вызывающих заболевания осетровых рыб в аквакультуре. 3. Характеристика антибактериальной активности <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> родительских и сконструированных новых химерных эндолизинов.
Ожидаемые и достигнутые результаты	<p>По результатам исследования выделены и биохимически охарактеризованы изоляты бактерий. Путем секвенирования генов 16S рНК и <i>gyrB</i> бактериальные изоляты были идентифицированы как <i>A. hydrophila</i>, <i>A. salmonicida</i>, <i>A. veronii</i>, <i>A. bestiarum</i>, <i>P. parafulva</i> и <i>P. protegens</i>. Экспериментальное заражение <i>A. hydrophila</i> и <i>A. salmonicida</i> в концентрации 10^8 и 10^{10} КОЕ/мл у <i>O. niloticus</i> и <i>A. baerii</i> привело к 100% смертности. Изучены гистопатологические изменения у экспериментально зараженных рыб, которые привели к выраженным клиническим признакам и грубым патологическим поражениям. Сконструированы 4 новых химерных эндолизина путем замены доменов с использованием синтетических и оптимизированных по кодонам генов эндолизина гетерологического происхождения для модуляции специфичности и усиления антибактериальной активности. Новый химерный эндолизин Gp110/LysPA26, показал повышенную литическую активность в отношении бактерий рода <i>Aeromonas</i> по сравнению с его родительскими формами. Результаты, полученные <i>in vitro</i>, были подтверждены анализами <i>in vivo</i>, поскольку выживаемость инфицированных <i>O. niloticus</i> была лучше, когда особей <i>O. niloticus</i> лечили эндолизином Gp110 или Gp110/LysPA26, чем при лечении другими эндолизинами. Кроме того, определено что инъекции Gp110 способствуют заживлению ран у <i>A. baerii</i>, естественно пораженных аэромоназом. Процент закрытия ран у рыб, обработанных Gp110, составил 41,8% на 6-й день, 79% на 12-й день и 95,7% на 25-й день. Наши результаты показывают, что Gp110 и Gp110/LysPA26 являются многообещающими кандидатами для разработки терапевтических средств против инфекций <i>Aeromonas</i> в аквакультуре.</p>
Имена и фамилии членов исследовательской группы с их идентификаторами	<p>1. Бисенбаев Амангельды Куанбаевич, Доктор биологических наук, Индекс Хирша – 8, ORCID: 0000-0001-7837-8685, Scopus author ID: 24343057700 (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=24343057700);</p>

<p>(Scopus Author ID, Researcher ID, ORCID, при наличии) и ссылками на соответствующие профили</p>	<p>2. Смекинов Изат Темиргалиевич, PhD Индекс Хирша – 5, ORCID: 0000-0002-7739-7777, Scopus author ID: 56688607600. (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56688607600);</p> <p>3. Алыбаев Санжар Досанович, студент докторантуры, Индекс Хирша – 3, ORCID: 0000-0002-7909-1835, Scopus author ID: 57203727066. (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57203727066);</p> <p>4. Бакиев Серик Самигуллович, PhD, Индекс Хирша – 2, ORCID: 0000-0001-5095-6869, Scopus author ID: 57214922444. (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57214922444);</p> <p>5. Куанбай Айгерим Курманбеккызы, PhD, Индекс Хирша – 1, ORCID: 0000-0001-6509-4085;</p> <p>6. Тилвалдиева Саида Владимировна, магистр</p> <p>7. Кауысбеков Алмас Жомартович, магистр</p> <p>8. Утегенова Қаламқас Сериковна, докторант</p>
<p>Список публикаций со ссылками на них</p>	<p>1. Bakiyev S.S., Bissenbaev A.K. Diseases caused by bacteria of the Aeromonas and Pseudomonas genus when reared fish in controlled systems // Вестник КазНУ, серия биологическая. – 2021. № 2. – С. 4-16. – DOI: 10.26577/eb.2021.v87.i2.01.</p> <p>2. Бакиев С.С., Тилвалдиева С. В. Реттелетін жүйелер жағдайында өсірілетін бекіре тұқымдас балықтардың ауруын тудыратын Aeromonas sobria бактериясын биохимиялық және молекулалық-генетикалық идентификациялау // Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі». - 2021. – С. 260.</p> <p>3. Bakiyev S.S., Bissenbaev A.K. Aeromonas hydrophila from Siberian sturgeon (Acipenser baerii) // The 5th Symposium on EuroAsian Biodiversity. – 2021. - P. 304.</p> <p>4. Бакиев С.С., Бисенбаев А.К. Биохимическая и молекулярно-генетическая идентификация бактерии Pseudomonas putida вызывающая заболевание осетровых рыб, выращиваемых в условиях регулируемых систем // VIII International conference "Modern biotechnology for science and practice". - 2021. – С. 7-8.</p> <p>5. Bakiyev S., Smekenov I., Zharkova I., Kobegenova S., Sergaliyev N., Absatirov G., Bissenbaev A. Isolation, identification, and characterization of pathogenic Aeromonas hydrophila from critically endangered Acipenser baerii // Aquaculture Reports. – 2022. – Vol. 26. - 101293. - DOI: https://10.1016/j.aqrep.2022.101293 (Web of science: Q1, Scopus: Q1, процентиль – 84%).</p> <p>6. Bakiyev S. S., Smekenov I.T., Baltakhozha N. B., Kauysbekov A., Bissenbaev A.K. Isolation, identification and physiological growth characteristics of Pseudomonas parafulva from diseased Acipenser baerii // International Journal of Biology and Chemistry. – 2022. – Vol. 15, № 2. - P. 18-24. – DOI: 10.26577/ijbch.2022.v15.i2.03.</p> <p>7. Бакиев С.С. Биология бактерии Aeromonas hydrophila выделенной из больных осетровых рыб, выращиваемых в</p>

	<p>установках замкнутого водоснабжения (УЗВ) // Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі». - 2022. – С. 18.</p> <p>8. Тилвалдиева С. В., Бакиев С.С. Бекіре тұқымдас балықтарының патогені – <i>Aeromonas veronii</i> бактериясын биохимиялық және молекулалық-генетикалық сипаттамалары негізінде идентификациялау мен физиологиялық талдау // Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі». - 2022. – С. 314.</p> <p>9. Балтахожа Н.Б., Кауысбеков А.Ж., Бакиев С.С. Бекіре тұқымдас балықтарының патогені <i>Pseudomonas parafulva</i> бактериясын бөліп алу, идентификациялау және антибиотиктерге төзімділігін талдау // Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі». - 2022. – С. 283.</p> <p>10. Bakiyev S., Smekenov I., Zharkova I., Kobegenova S., Sergaliyev N., Absatirov G., Bissenbaev A. Characterization of atypical pathogenic <i>Aeromonas salmonicida</i> isolated from a diseased Siberian sturgeon (<i>Acipenser baerii</i>) // <i>Heliyon</i>. – 2023. – Vol. 9. – P. 1-17. – DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e17775 (Web of science: Q2, Scopus, процентиль – 86%).</p> <p>11. Bakiyev S., Smekenov I., Bissenbaev A. Comparative analysis of potential effects of three phage endolysins against antibiotic-resistant bacteria from the genus <i>Aeromonas</i> // <i>International Aquatic Research</i>. – 2023. – Vol. 15. – P. 249-262. – DOI: 10.22034/IAR.2023.1988163.1454 (Web of science: Q3, Scopus: процентиль – 57%).</p> <p>12. Кауысбеков А.Ж., Бакиев С.С. Пептидогликан-байланыстырушы EхеА домені бар эндолизиннің химерлі конструкциясын құрастыру және бактерияға қарсы белсенділігін тексеру // Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі». 2023. – С. 259.</p>
Информация о патентах	-