

Жоба туралы қысқаша ақпарат

Жоба аты	AP14870256 «Құтыру вирусын эффективті бейтараптандыратын және оны жылдам анықтауға қажет реагент ретінде пайдалану үшін спецификалық және сезімтал наноантиденелерді жасау»
Жоба өзектілігі	<p>Құтыру дүние жүзінде әр түрлі жануарларда кездеседі және симптом басталғаннан кейін 100% -ке дерлік өліммен аяқталатын ең қауіпті вирустық инфекция. Құтыру вирусы Қазақстан халқының денсаулығына үлкен қауіп төндіреді. Ертерек жарияланған деректерге сүйенсек, 2007-2011 жылдар аралығында адамдар арасында құтыру ауруының 44 оқиғасы немесе жылына орта есеппен 9 өлім жағдайы тіркелген. 2010 жылы иттердің қабуы негізіндегі аурулар миллион халыққа шаққанда 3700 адамды, ал 2011 жылы миллион халыққа шаққанда 4130 адамды құрады. 2009 жылы 57 000 адам, 2010 жылы 59 000 адамға, постэкспозициялық профилактика, 2011 жылы 67 110 адамға жүргізілді. Қазақстан бойынша бұл аурудың экономикалық шығымы 20 миллион АҚШ долларынан асып түсті. Осы кезге дейін Қазақстанда құтыру проблемасы шешілмеген күйінде қалып отыр, аурудың табиғи ошақтары үнемі тіркеліп отырады, бұл құтырудың алдын алу және күресу шараларының тиімділігін арттыруды талап етеді.</p> <p>Құтыруды емдеудің жалғыз әдісі - вакциналар мен құтыруға қарсы иммуноглобулинмен (RIG) арнайы профилактиканы қолдану. RIG жылқы немесе адам плазмасынан алынады. Екі өнімге қатысты қауіпсіздік, жеткізу және шығындар бойынша бірнеше шектеулер бар. Сондықтан құтыру вирусымен күресудің жаңа инновациялық және арзан құралдарын алу – кезек күттірмейтін мәселе.</p> <p>Наноантитела терапиясы қазіргі уақытта күрделі вирустық инфекцияларды емдеу үшін өте перспективті балама болып саналады. Наноантиденелердің бірқатар артықшылықтары бар, соның ішінде экономдылық пен бактерияларда көп мөлшерде өндірудің мүмкіндігі, жақсы ерігіштігі, температура мен рН мәнінің айтарлықтай ауытқуларына төзімділігі және in vivo жағдайында ұлпаларға ену эффективтілігі. Осы ерекшеліктерге сүйене отырып, наноантиденелерді кәдімгі антиденелермен салыстырғанда әртүрлі ауруларды, соның ішінде құтыруды диагностикалау мен емдеудің перспективті құралы деп санауға болады.</p> <p>Бұл жоба үлкен әлеуетке ие құтыру вирусын тиімді бейтараптандыру үшін жаңа наноантиденелерді жасауға бағытталған. Құтыру вирусына қарсы спецификалық наноантиденелер жасау профилактикаға кететін шығындарды айтарлықтай төмендетуге, шалғай аудандарды қамтамасыз ету мәселесін шешуге және одан әрі коммерциялық өндіріске үлкен перспективаларға әкелуі мүмкін.</p>
Жоба мақсаты	Құтыру вирусын эффективті бейтараптандыратын жаңа наноантиденелерді жасау. Имундық талдауларда Құтыру

	<p>вирусын жылдам анықтауға арналған наноантиденелерге негізделген жоғары спецификалық және сезімтал зондты құрастыру.</p>
Жоба міндеттері	<ol style="list-style-type: none"> 1. Құтыру вирусының G-белогын кеңістікте дұрыс қатпарланған рекомбинантты белок ретінде экспрессиялау және экспрессия өнімінің антигенділігін бағалау. 2. Фагты дисплей әдісі және RABV-G-спецификалығы бойынша наноантиденелерді таңдау арқылы VHH cDNA кітапханасын (наноантиденелер) құру. 3. Моно-, би- және тривалентті RABV-спецификалық наноантиденелердің бейтараптандыру эффективтілігін, Құтыру вирусының өлімге әкелетін дозасымен жұқтырған тышқандар моделінде зерттеу.
Күтілетін және қол жеткізілген нәтижелер	<p>Зерттеу нәтижелері бойынша құтыру вирусының G-белогының (RABV-G) клеткадан тыс доменіне компьютерлік талдау жүргізілді. G-белогының 73–79 және 117–125 жағдайларында орналасқан гидрофобты аминқышқылдарын G4S линкеріне ауыстырдық, сонымен қатар оны ашытқы жүйесінде жақсы экспрессияландыру үшін кодондарды пайдалану тұрғысында және GC мөлшеріне қатысты оңтайландырдық. N-соңында сигналдық пептид, ал C-соңында с-Myc және 6xHis-тегтері бар RABV-G кодтайтын ExRABVG-GS кДНК гені pBluescript II SK (+) векторына клондалды. Сигналдық пептид, конститутивті GAP промотор және ExRABVG-GS кДНК гені бар ашытқы жүйесіне аналған pGAPZα/ExRABVG-GS векторы құрастырылды. Рекомбинантты GS115 <i>P. pastoris</i> штаммының G-белокты экспрессиялау және секрециялау қабілеті талданды. Молекулалық салмағы шамамен 51 кДа құрайтын G-белокқа сәйкес белоктың эффективті экспрессияланатыны SDS-PAGE арқылы көрсетілді. G-белогы, үш күндік қоректік ортадан аффиндік және иондық хроматография арқылы тазартылып алынды. Тазартылған рекомбинантты протеинмен қояндар иммунизацияланды және құтыру вирусының G -белогының клеткадан тыс доменіне қарсы поликлоналды антиденелер алынды. Алынған поликлоналды антиденелердің титрлері жанама ИФА әдісі арқылы анықталды. Поликлоналды антиденелерді преципитациялау және тазарту жүргізілді. Қолжетімді коммерциялық антиденелерді пайдаланып, жанама ИФА арқылы G-белоктың антигендік сипаттамалары анықталды.</p> <p>Тазаланған ExRABVG-GS рекомбинантты белогымен екі жаңазенландиялық ақ қояндарға теріасты иммунизациясы жүргізілді. Жанама ELISA әдісімен поликлональді антиденелердің титрі анықталды. Антиденелер тұндыру әдісімен концентрлендіріліп, тазаланды. Кейін олардың иммуногенділігі дот-блот пен вестерн-блот әдістері арқылы анықталынды. Антиденелер денатурацияланбаған белоктармен қатар денатурацияланған белоктарды да танытыны көрсетілді. 150 мл шеткі қаннан Ficoll-Paque PLUS-ті қолдана отырып моноклеарлы жасушалар бөлініп алынды. Кейіннен олардан жалпы РНҚ бөлініп алынып, ол РНҚ-дан</p>

	<p>наноантиденелердің қДНК-сының кітапханасы алынды. VHH-ті (нанодегені) кодтайтын қДНК кітапханасын құрастыру ПЦР өнімдерін рADL-23с фагмидалық векторына клондау арқылы жүзеге асырылды.</p> <p>рADL-23с/VHH векторы бар TG1 E.coli трансформанттары жаңа VHH-ті кодтайтын M13K07 фагтарының өндірісіне қолданылды. Био-пәннинг әдісімен RABV-G-ге спецификалық наноантиденелер жанама ELISA әдісін қолдану арқылы анықталынды. Жанама ELISA әдісінде жабушы антиген ретінде бұрын тазаланған рекомбинантты ExRABVG-GS белогы мен Platelia® Rabies II (BioRad) жиынтығы қолданылды. Кейіннен іріктеліп алынған наноантиденелер секвенирленіп, E. Coli-дің WK6 штаммында экспрессияланып Akta start FPLC жүйесінде his-таңбаланған белоктар аффинді хроматография әдісімен тазаланып алынды.</p>
<p>Зерттеу тобы мүшелерінің аты-жөні, идентификаторлары (Scopus Author ID, Researcher ID, ORCID, бар болса) және сәйкес профильдерге сілтемелер</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Бисенбаев Амангельды, биология ғылымдарының докторы, H-индекс – 8, ORCID: 0000-0001-7837-8685, Scopus author ID: 24343057700 (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=24343057700); 2. Сметенов Изат Темиргалиевич, PhD, H-индекс – 5, ORCID: 0000-0002-7739-7777, Scopus author ID: 56688607600. (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56688607600); 3. Алыбаев Санжар Досанович, докторант, H-индекс – 3, ORCID: 0000-0002-7909-1835, Scopus author ID: 57203727066. (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57203727066); 4. Бакиев Серик Самигуллович, PhD, H-индекс – 2, ORCID: 0000-0001-5095-6869, Scopus author ID: 57214922444. (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57214922444); 5. Қуанбай Әйгерім Құрманбекқызы, PhD, H-индекс – 1, ORCID: 0000-0001-6509-4085; 6. Батанова Жанат Мухаметкалиевна, ветеринария ғылымдарының кандидаты, H-индекс – 1, ORCID: 0000-0002-2183-1394, Scopus author ID: 57220199919. (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57220199919); 7. Баянды Гүлшат Асхатқызы, докторант, H-индекс – 2, ORCID: 0000-0003-2639-4645, Scopus author ID: 57209477405. 8. Ахметсадықов Нурлан Нуролдинович, ветеринария ғылымдарының докторы, H-индекс – 6, ORCID: 0000-0001-6076-7164, Scopus author ID: 55622396700. (https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55622396700); 9. Кауысбеков Алмас Жомартович, магистр 10. Утегенова Қаламқас Сериковна, докторант.
<p>Жарияланымдар тізімі (URL, DOI көрсетілген)</p>	<p>Баянды Г.А., Ахметсадықов Н.Н., Бисенбаев А.К. Молекулярная генетическая характеристика вируса бешенства, патогенез и достижения в диагностике и разработке средств борьбы // Вестник ҚазҰУ, биологиялық серия,- 2023. – Том 95, №2. – Б.4-20. https://doi.org/10.26577/eb.2023.v95.i2.01</p>
<p>Патент туралы ақпарат</p>	<p>-</p>