

**Абай Жандостың «8D05110 – Вирусология»  
білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми  
дәрежесін алу үшін «Ірі қара малдың туберкулезіне қарсы векторлық  
вакцина жасау технологиясын әзірлеу» тақырыбындағы  
диссертациясына  
АҢДАТПА**

**Диссертациялық зерттеудің жалпы сипаттамасы.** Диссертациялық жұмыс микобактериялық гендерді тасымалдаушы векторды құру арқылы рекомбинантты құс тұмауы вирусының негізінде ірі қара мал туберкулезіне қарсы отандық векторлық вакцинаны жасауға, сонымен қатар зертханалық және мақсатты жануарларда вакцинаның қауіпсіздігін, қорғаныштығын және иммуногенділігін зерттеуге арналған.

**Диссертациялық жұмыстың өзектілігі.** Ірі қара мал туберкулезі – *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) микобактериясы тудыратын ірі қара малдың (ІҚМ) созылмалы жұқпалы ауруы. Ірі қара туберкулезін бақылаудың тағы бір маңызы – оның зооноздық қабілетіне байланысты, яғни белгілі бір жағдайда жануарлардан адамға табиғи жолмен берілуі қаупін тудырады. Қазақстанның ауыл шаруашылығында ІҚМ басты орын алады. Сондықтан ірі қара денсаулығына елеулі әсерін, сондай-ақ экономикалық және әлеуметтік салдарын ескере отырып, Қазақстанда ірі қара мал туберкулезін зерттеу өзекті мәселе болып қала береді.

Қазіргі уақытта, *M. bovis* вакцинациясының тиімділігіндегі айтарлықтай айырмашылықтарға қарамастан, ірі қара малдағы және адамдардағы БЦЖ әлі күнге дейін ірі қара мал туберкулезінің таралуын төмендетуде әлеуетті пайдасы бар жалғыз коммерциялық қол жетімді вакцина үміткері болып табылады. Дегенмен, соңғы жылдары аллергиялық зерттеулер кезінде иммунизацияланған жануарларда вакцинациядан кейінгі реакциялардың пайда болуымен, төмен иммуногенділігімен және олардың дифференциациясының қиындығымен байланысты БЦЖ вакцинасын

қолдануға қатысты көптеген шағымдар пайда болды. Жұқпалы ауруларға қарсы тиімді вакциналарды жасаудың перспективті бағыты вакцинацияның профилактикалық немесе емдік әсерін қалыптастырумен байланысты организмге қорғаныш антигендерін жеткізетін әлсіретілген рекомбинантты векторларды құру болып табылады.

Кері генетика әдісінің дамуы тұмауға қарсы түрлендірілген интраназальды векторлық вакцинаны қолданудың бірегей мүмкіндігі пайда болды. Тұмау векторларын құру кезінде генетикалық манипуляцияның перспективалы нысандарының бірі тұмау вирусының құрылымдық емес NS1 ақуызы болып табылады. Бұл ақуыз табиғи тұмау инфекциясы кезінде жұқтырған жасушаларда көп мөлшерде синтезделеді және айқын антидене мен Т-жасушалық иммундық жауап тудырады. Тұмау вирусының NS генінің NS1 протеинінің ашық оқу шеңберіне үлкен мөлшердегі бөгде нуклеотидтер тізбегін енгізуге жоғары төзімділігін көрсетті.

Қазіргі кезде жаңа вакцина кандидаттарын жасау кезінде туберкулез микобактериясының культуралық сүзгі ақуыздары үлкен қызығушылық тудырып отыр. Солардың бірі ерте секреторлық антиген ESAT-6 (ерте секреция антигені, 6 кДа) болып табылады. Бұл ақуыз микобактериялардың RD1 геномдық аймағының көмегімен кодталған, әрі аталмыш генмоддық аймақ БЦЖ вакцина штаммын ұзақ мерзімді өсіру кезінде жоғалған және адамдар мен жануарлардың туберкулез инфекциясының бастапқы кезеңінде де, сондай-ақ зерттеулерде жасушалық иммундық жауаптың иммунды-доминантты нысанасы болып табылады.

Адьювантты қолданбай микобактериялық антигендердің иммуногенділігін арттыру жолдарының бірі генді жеткізу және олардың организмде экспрессиясы үшін вектор ретінде аттенуирленген вирустарды қолдану болып табылады. Аттенуирленген вирустар (аденовирус, тұмау вирусы) негізінде микобактерия гендерін тасымалдайтын вирустық векторлар жасалуда.

Инфекцияны тоқтату үшін вакциналарды қолдану маңызды құрал болып табылады. Вакцинаға үміткерлерді жасау, сондай-ақ вакцинациялау стратегияларын әзірлеу үшін *M. bovis* патогенезінің барлық ерекшеліктерін және вакцинаға үміткерлердің клиникаға дейінгі сынақтары жүргізілетін жануарлар үлгілерімен салыстырғанда адам ағзасының ерекшеліктерін ескеру қажет.

**Зерттеу мақсаты:** Микобактериялық ақуыздарды экспрессиялайтын рекомбинантты тұмау вирустары негізінде ірі қара мал туберкулезіне қарсы жаңа векторлық вакцинаны жасау технологиясын әзірлеу.

**Зерттеу міндеттері:**

1. *Mycobacterium bovis*-тің иммунодоминантты ақуыздарын экспрессиялайтын рекомбинантты тұмау векторларын құру;
2. Ірі қара мал туберкулезіне қарсы векторлық вакцина әзірлеу технологиясын жасау;
3. Ірі қара мал туберкулезіне қарсы вакцинаның тәжірибелік өнеркәсіптік үлгілеріне институтішілік комиссиялық сынақтар жүргізу.

**Зерттеу объектілері:**

- Рекомбинантты құс тұмауы вирусы;
- *Mycobacterium bovis*-тің протективті ақуыздары;
- Ірі қара мал туберкулезіне қарсы векторлық вакцина.

**Зерттеу әдістері:** Жұмыс барысында молекулалық биология, биотехнология, вирусология, серология әдістері қолданылып, жануарларда тәжірибелер жүргізілді.

**Зерттеудің ғылыми жаңалығы:** Қазақстан Республикасында алғаш рет молекулалық биология мен гендік инженерияның соңғы жетістіктерін пайдалана отырып, ірі қара туберкулезіне қарсы жаңа векторлық вакцина өндіріліп, сынақтан өткізілді.

**Жұмыстың ғылыми-практикалық маңызы:** Вакцинаның иммуногенділігін арттыру, жаңа вакциналық композициялар жасау, қазіргі молекулалық биология мен иммунология жетістіктері негізінде туберкулезге

қарсы вакциналарды жасау ветеринария үшін үлкен маңызға ие. Жүргізілген ғылыми зерттеулердің нәтижесінде ірі қара мал туберкулезінің алдын алатын жаңа буын препараты жасалды.

### **Қорғауға ұсынылатын негізгі тұжырымдар:**

1. Құс тұмауы вирусын вектор ретінде пайдаланатын ірі қара малдың туберкулезіне қарсы векторлық вакцина аурудың алдын алудың тиімді әдісі болып табылады.

2. Ірі қара мал туберкулезіне қарсы векторлық вакцина алуға әзірленген технология оңтайлы болып табылады. Әзірленген технология бойынша вакцина сапасы бойынша ҰС 405-1919-04 ДП-146-2023 ұйым стандартына сәйкес келеді.

3. Құс тұмауы вирусы негізіндегі ірі қара малдың туберкулезіне қарсы векторлық вакцина зертханалық жануарларда қауіпсіз, протективті қасиетке ие және иммунитетті қамтамасыз етеді, бұл институтішілік сынақ нәтижелерімен расталады.

### **Негізгі зерттеу нәтижелері мен қорытындылары:**

1. Кері генетика әдісін пайдалана отырып, *M. bovis* Esat-6 және TB10.4 ақуыздарын экспрессиялайтын рекомбинантты тұмау вирусының штаммдары құрастырылды. Екі рекомбинантты штаммдардың құрамы A/PR/8/34(H1N1) штаммы (PB2, PB1, PA, NP және химерикалық NS1 гендері) және A/Астана/6/05 штаммы (беткі антигендер HA, NA және M гендері) гендерінен тұрады.

2. Тауық эмбриондарында рекомбинантты штаммдарды өсіру шарттары оңтайландырылған: вирустық инфекция дозасы – 1000-10000 EID50; эмбрион жасы – 10 күн; температура – 37 °С; инкубация ұзақтығы – 48 сағат. Рекомбинантты штаммдардың жұмыс биомассасының инфекциялық белсенділігі  $8,87 \pm 0,22 \lg \text{EID50/мл}$  көрсетті.

3. Перспективті вакцина құрамын таңдау мақсатында зертханалық жануарларда тұмау векторының қауіпсіздігін, иммуногенділігін және қорғаныштығын алдын ала бағалау жұмыстары жүргізіліп, нәтижесінде

вакцина үлгілері таңдалды: ESAT-6 және TB10.4 иммунодоминантты ақуыздарын кодтайтын тұмау векторы + Montanide Gel адьювантымен (көлемі - 1,0 мл, енгізу әдісі - тері астына); ESAT-6 және TB10.4 иммунодоминантты ақуыздарын кодтайтын тұмау векторы (көлемі – 1,0 мл, енгізу жолы – тері астына). Вакцинаға үміткерлердің таңдалған үлгілері вакцинаны әзірлеу бойынша одан әрі зерттеулер үшін пайдаланылды. ІҚМ туберкулезіне қарсы векторлық вакцинаны қолданудың оңтайлы әдісі әзірленді. Бұзауларға тері ішіне енгізу арқылы 2 мл/ Іg 6,25 EID50 көлемінде 21 күн аралықпен екі реттік вакцинация таңдалды. Бұл иммундау режимі егілген бұзауларда 12 ай бойы (бақылау кезеңі) қарқынды иммунитетті қамтамасыз етті.

4. Тұмау векторы негізінде туберкулезге қарсы векторлық вакцинаны өндіру технологиясы әзірленді. Вакцинаны тұрақтандыратын орталар таңдалды және сапаны бақылауға сәйкес стерильді және зертханалық жануарлар үшін қауіпсіз ІҚМ туберкулезіне қарсы векторлық вакцинаның тәжірибелік сериясы дайындалды. Вакцина бойынша нормативтік-техникалық құжаттама әзірленді, оған мыналар кіреді: Ірі қара мал туберкулезіне қарсы векторлық вакцинаны өндіру және бақылау жөніндегі нұсқаулық; СТ 405-1919-04 ГП-146-2023 «Ірі қара мал туберкулезіне қарсы векторлық вакцина»; «Ірі қара мал туберкулезіне қарсы векторлық вакцина» препаратын қолдану жөніндегі нұсқаулық.

5. ҚР ДСМ БҚПҒЗИ бас директорының № 468-Ө (08.12.2022 ж.) бұйрығына сәйкес ІҚМ туберкулезіне қарсы векторлық вакцинаның қауіпсіздігіне, иммуногенділігіне және физикалық-биологиялық көрсеткіштеріне мекемеішілік комиссиялық сынақтар жүргізілді. Сынақтар векторлық вакцина СТ 405-1919-04 ГП-146–2023 көрсетілген барлық талаптарға сәйкес келетінін және зиянсыз және иммуногенді екенін көрсетті.

6. Диссертациялық материалдар негізінде 9 ғылыми жарияланым жасалды.

**Жұмыстың ғылыми жобамен байланысы:** Диссертациялық жұмыс AP09259683 «Ірі қара мал туберкулезінің алдын алу үшін векторлық

вакцинаны өндіру технологиясын әзірлеу» 2021-2023 жж. гранттық қаржыландыру жобасы аясында жүзеге асырылды.

**Жарияланымдар:** Диссертацияның негізгі нәтижелері баспадан шыққан 9 ғылыми еңбекте жарияланды, оның ішінде, 1 мақала Қазақстан Республикасы Білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған отандық мерзімді журналдарда; Web of Science (Q1) және Scopus дерекқорына (82%) енгізілген «Vaccines» журналында 1 мақала, рецензияланатын «Journal of Genetic Engineering and Biotechnology» журналында Web of Science дерекқоры (Q2) және Scopus (44%) 1 мақала. Сонымен қатар 2 пайдалы модельге Қазақстандық патент алынды.

**Диссертацияның көлемі мен құрылымы.** Диссертациялық жұмыс белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талдау, қорытынды, пайдаланылған әдебиеттер тізімі бөлімдерін қосқанда 118 беттен, 97 әдебиеттен, 40 суреттен және 30 кестеден тұрады.