

## АҢДАТПА

**Тулєпова Гультмира Кайырбековнаның**  
**6D120100 – «Ветеринариялық медицина» мамандығы бойынша**  
**философия докторы (PhD) дәрежесін алуға ұсынған «Ірі қара малы**  
**бруцеллезіне диагностикалық препарат үшін нано – платформа**  
**дайындау» тақырыбында орындалған диссертациялық жұмысына**

**Зерттеу тақырыбының өзектілігі.** Бруцеллез әлемдегі ең көп таралған зооноздардың бірі ретінде мал шаруашылығына айтарлықтай экономикалық зиян келтіретін аса қауіпті және әлеуметтік маңызы бар инфекция болып табылатындығы белгілі.

Бруцеллез індетімен ауылшаруашылық малдары ғана ауырып қоймай, сонымен қоса адамдарда ауырады. Біздің еліміздегі бруцеллезге қатысты жағдай осы аса қауіпті аурумен күресудің заманауи заттарын жасау бойынша шұғыл шараларды іздестіруді талап етеді. ҚР аумағында тіркелген диагностикалық жиынтықтар (40-тан астам) бруцеллезбен ауыратын ауруларды вакцинацияланған жануарлардан ажырата алмайды және жоғары ерекшелігі мен сезімталдығына ие емес. Сонымен қатар, олардың көпшілігі көп уақытты қажет етеді, әрі қымбатқа түседі (мысалы, ИФТ) және тестілеу үшін арнайы зертханалар мен білікті мамандар қажет болады. Ауру жануарларды вакцинацияланғандардан ажырата алатын диагностикалық жиынтықтың болмауы вакцинацияланған жануарларға ауру деп диагноз қоюға және ветеринарлық заңға сәйкес союға мәжбүрлейді. Бұл мал басының көбеюіне кері әсер етеді.

Қолданыстағы диагностикалық жиынтықтар нақты емес болғандықтан және бруцеллездің барлық штамдарына антиденелерді анықтай алмайтындықтан және вакцинацияланған жануарларды ауру жануарлардан ажыратып балауға мүмкіндік бермейтіндіктен ірі қара малы бруцеллез жұқтыру қауіпі жоғары. Нәтижесінде, ерте диагностикалау карантин үшін одан әрі таралудың алдын алу үшін маңызды.

Қазіргі таңда қауіпсіз диагностикалық жиынтық пен бруцеллезге қарсы вакцинаны әзірлеу бағыттарының бірі өсімдік негізіндегі бруцеллез антигендерін алу, яғни "жеуге жарамды" вакциналарды жасау болып табылады. "Жеуге болатын вакциналар"- бұл өзінің жасушаларындағы иммунологиялық белсенді және басқа емдік заттарды шығаруға қабілетті өзгертілген жеуге жарамды өсімдіктер тобы. Осылайша, өсімдіктің әрбір жасушасы оны дененің ферментативті жүйелерінен қорғайтын күшті жасуша қабырғасымен қоршалған мақсатты заты бар капсула болып табылады. Осындай өсімдікті шикі түрінде жегеннен кейін адам немесе жануар ағзасы ауруға қарсы белсенді иммунитетті қалыптастырады.

Мұндай өсімдікті шикі түрінде қолданғаннан кейін адам немесе жануарлар ағзасы ауруға қарсы белсенді иммунитетті қалыптастырады.

Қазақстан диагностикада әлемдік ғылыми-техникалық прогресстің жетістіктерін белсенді түрде жүзеге асыруды, алайда, вирус тәрізді бөлшектер платформасы негізінде бруцеллезге қарсы сенімді және сезімтал диагностикалық жиынтық құру мәселелері (*VLP*) өзекті болып қала береді.

**Диссертациялық зерттеудің мақсаты.** Ірі қара мал бруцеллезіне қарсы диагностикалық жиынтық әзірлеу үшін бруцеллездік антигендерді өсімдіктерде дамытып платформа жасау.

**Зерттеу міндеттері:**

1. *V.abortus rb19* вакциндік штамм бруцелладан ДНҚ геномын бөліп алу;
2. Гендер банкі бойынша бруцеллездің беткейлік антигендерінің нуклеотидтік тізбегін анықтау;
3. Бактериялық торшаларға клондау үшін *Omp25* және *Omp16* беткейлік бруцеллез антигендерін бөліп алу және дайындау;
4. Өсімдік вирустарының өзгертілген капсидтік ақуыздарын өндіруге арналған вектор құрастыру;
5. *VLP* платформасына *Omp25* және *Omp16* беткейлік бруцеллез антигендерін енгізу;

**Зерттеу әдістері:** ДНҚ геномын бөліп алу; ПТР – амплификациясы (күшейту); ДНҚ фрагменттерін молекулалық клондау; байлау (легирирование) және секвенирлеу; ақуыз экспрессиясын алу және тазарту; бактериялық торшалардан ДНҚ плазмидін бөліп алу; бруцеллездің беткейлік антигендерінің нуклеотидтік тізбегін анықтау; бруцеллездің беткейлік антигендерін тазарту, клондау және субклондау; өсімдіктерде экспрессиялау үшін вирустық векторларын клондау, металл – хелатты аффиндік хроматография әдісі; вестерн-блоттинг әдісі; флуоресценттік поляризациялық талдау; өсімдіктердегі вирусқа қабілетті бөлшектер VLPs/антигендік пептидтерді өндіру әдістері қолданылған.

**Негізгі ережелері (дәлелденген ғылыми гипотезалар және жаңа білім болып табылатын басқа да тұжырымдар):** зерттеудің ғылыми жаңалығы - алғаш рет арнайы әдіс негізінде бруцеллездің RB19, Rb51 және RB 82 барлық үш *Brucella* вакциналық штамдарын беткейлік антигендеріне қарсы антиденелерді анықтау арқылы жылдам және анық дәл балау қоюды қамтамасыз ететін нано-платформа жасалды. Ол беткейлік антигендерді кодтайтын генді өсімдіктерде экспрессиялау арқылы жүргізіледі.

Қазақстан Республикасының патенті алынды:

1 «Ауыл шаруашылығы жануарларының бруцеллезін диагностикалау және алдын алу үшін бруцеллез антигенін алу тәсілі. «Ұлттық зияткерлік меншік институты» өнертабысқа патент №35533. 25.02.2022.

Ол VLPs/антигенді пептидтерді вирустық бөлшектерді өндіру технологиясына және қандағы, сарысуда, плазмада және сүттегі бруцеллез қоздырғышына қарсы антиденелерді анықтау үшін флуоресцентті поляризация технологиясына негізделген. Сынақ өсімдіктердегі келесі синтездеу үшін VLP вирустық бөлшектерінің бөліктерімен біріктірілген *V.abortus BR19* вакциналық штамдарын имитациялайтын пептидтік тізбектерге негізделген.

Өсімдіктерден өндірілген жаңа Viron-Brucella диагностикалық жиынтығы тазартылып, ажыратып балау үшін вирустық – ақуыздық кешен ретінде қолданылады.

Біздің диагностикалық жиынтыққа арналған нано-платформа бруцеллездің RB19, Rb51 және RB 82 барлық үш Brucella вакциналық штамдарын беткейлік антигендеріне қарсы антиденелерді анықтау арқылы жылдам және анық дәл балау қоюды қамтамасыз етеді. Ең бастысы, бұл жиынтық бруцеллезбен ауру жануарларды вакцинделген жануарлардан ажыратып балауға мүмкіндік береді.

Вирус тәрізді бөлшектерді (VLP) пайдаланған, ағымдағы диагностикалық жинақтарда жетіспейтін сезімталдық пен спецификалық қасиеттерге жету вирусқа қабілетті бөлшектерді (ВҚБ-VLP) қолдануда мүмкіндік береді.

Қорғауға шығарылатын негізгі ережелер: жүзім А вирусының гені мен бруцеллездің беткейлік антигендері (Omp25 және Omp16) гендерін біріктіріп VLP платформа дайындау;

**Зерттеудің негізгі нәтижелерінің сипаттамасы.** Зерттеу жұмысы бойынша 8 ғылыми жұмыс жарияланды, оның ішінде 3 мақала ҚР ҒЖБМ БҒБК ұсынған басылымдарда, 3 мақала халықаралық конференциялар материалдарында және 1 мақала Scopus компанияларының мәліметтер базасына кіретін журналда, 1 өнертабысқа патент алынды.

**Алынған нәтижелердің жаңалығы мен маңыздылығының негіздемесі.** Ғылыми - өндірістік жұмыстар жүргізу барысында алынған деректер бойынша зерттеу нәтижелері «Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» бD120100 - «Ветеринарлық медицина» мамандығы «Жануарлардың инфекциялық аурулар кезіндегі иммуногенетика» пәні бойынша докторанттардың оқу процесіне енгізілу шараларына ұсыныстар жасалды.

**Ғылымның даму бағыттарына немесе мемлекеттік бағдарламаларға сәйкестігі.** Зерттеулер 2018-2020 жж. аралығында ҚРАШМ 217 «Ғылымды дамыту» бюджеттік бағдарламасы, ғылыми жоба шеңберінде: «Ірі қара бруцеллезінен ҚР аумағын жақсарту үшін ViroN-Brucella диагностикалық жиынтығын әзірлеу» тақырыбы бойынша жүргізілді. Мемлекеттік тіркеу № AP05135949.

**Докторанттың әрбір жарияланымды дайындауға қосқан үлесі.** Диссертациялық жұмыс автордың жеке өзі орындаған аяқталған ғылыми зерттеу жұмысы болып табылады және Қазақстан Республикасының ғылым және жоғарғы білім министрлігі Білім және ғылым саласындағы бақылау комитетінің PhD докторы дәрежесін алу үшін диссертацияларға қойылатын талаптарына жауап береді.

Диссертациялық жұмыстағы зерттеу нәтижелері автордың атымен жариялануы, фотоматериалдары мен қорытындылары жұмыс нәтижелерінің нақтылығы мен негізділігін айқындайтын алынған өнертабысқа патентпен дәлелденіп, эксперименттік жұмыстардың дербес орындалғандығын растайды.

**Диссертацияның көлемі мен құрылымы.** Диссертация компьютерлік мәтінінің 75 бетінде мазмұндалған және нормативтік сілтемелер, анықтамалар, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, ғылыми әдебиетке шолу, өзіндік зерттеулер – зерттеудің негізгі бағыты, материалдар мен зерттеу әдістері, зерттеу нәтижелері, зерттеу нәтижелерін талқылау, қорытынды, тәжірибелік ұсыныстар, пайдаланылған әдебиеттер тізімі және қосымшалардан тұрады. Диссертациялық жұмыс 6 кесте, 15 қосымша, 11 суретпен безендірілген. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі 119 аталымнан тұрады.