

## **Аннотация**

**диссертационной работы Тулеповой Гульмира Кайырбековны на тему «Разработка нано-платформы для диагностического препарата бруцеллеза крупного рогатого скота» представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 6D120100 – «Ветеринарная медицина»**

**Актуальность темы исследования.** Бруцеллез, как один из самых распространенных зоонозов в мире, является особо опасной и социально значимой инфекцией, приносящей значительный экономический ущерб животноводству.

Эпидемия бруцеллеза поражает не только сельскохозяйственных животных, но и людей.

Ситуация с бруцеллезом в нашей стране требует неотложных мер по созданию современных средств борьбы с этим особо опасным заболеванием.

Зарегистрированные на территории РК диагностические наборы (более 40) не способны дифференцировать больных бруцеллезом от вакцинированных животных, и не обладают высокой специфичностью и чувствительностью. Кроме того, многие из них являются трудоемкими, дорогостоящими (например, ИФА), и требуют специализированные лаборатории и квалифицированный персонал для проведения теста. Отсутствие диагностического набора, который был бы способен дифференцировать больных животных от вакцинированных, привело к тому, что вакцинированные животные диагностировались как больные, и, согласно Ветеринарному законодательству, были подвергнуты убою. Это сказалось на поголовье скота.

Так как существующие диагностические наборы не обладают специфичностью и не способны обнаружить антитела ко всем штаммам бруцеллеза, и не позволяют дифференцированно диагностировать вакцинированных животных от больных, то создается высокий риск поголовного заражения КРС. В результате ранняя диагностика жизненно важна для карантина, чтобы предотвратить дальнейшее распространение.

Одним из направлений разработки безопасного диагностического набора и бруцеллезной вакцины является получение бруцеллезных антигенов на основе растений, т.е. разработки «съедобных» вакцин. «Съедобные вакцины» – это группа измененных съедобных растений, которые способны продуцировать иммунологически активные и другие терапевтические вещества внутри своих клеток. Таким образом, каждая клетка растения представляет собой капсулу с целевым веществом, окруженным крепкой клеточной стенкой, которая защищает его от ферментативных систем организма. После употребления такого растения в сыром виде организм человека или животного формирует активный приобретенный иммунитет против заболевания.

Казахстан активно внедряет достижения мирового научно-технического прогресса в диагностику, однако, вопросы создания надежного

и чувствительного диагностического набора против бруцеллеза на основе платформы вирусоподобных частиц (*VLP*) остаются актуальными.

**Цель диссертационного исследования.** Разработать платформу для наработки бруцеллезных антигенов в растениях для будущего диагностического набора против бруцеллеза крупного рогатого скота.

**Задачи исследований:**

1. Выделение генома ДНК из бруцеллы, штамма вакцины *B.abortus rb19*.
2. Определение нуклеотидной последовательности поверхностных антигенов бруцеллеза по банку генов.
3. Выделение и получение поверхностных антигенов бруцеллеза *Omp25* и *Omp16* для клонирования в бактериальные клетки.
4. Сконструировать вектор для продукции модифицированных капсидных белков вирусов растений.
5. Внедрить поверхностный бруцеллезный антиген *Omp25* и *Omp16* на платформу *VLP*.

**Методы исследования.** Диссертационной работе использовали способы выделения генома ДНК; ПТР – амплификация; молекулярное клонирование фрагментов ДНК; легирование и секвенирование; получение и очищение экспрессии белка; выделение плазмиды ДНК из бактериальных клеток; определение нуклеотидной последовательности поверхностных антигенов бруцеллеза; очистка клонирование и субклонирование поверхностных антигенов бруцеллеза; клонирование вирусных векторов для экспрессии в растениях; метод афинной хроматографии металлического хелата; флуоресцентный поляризационный анализ; способы получения *VLPs*/антигенных пептидов вирусоспособных частиц в растениях.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

Сочетание гена вируса А винограда и генов поверхностных антигенов бруцеллеза (*Omp25* и *Omp16*) для получения платформы *VLP*.

Впервые на основе специального метода разработана нано-платформа, обеспечивающая раннюю, быструю и точную диагностику путем обнаружения антител против поверхностных антигенов бруцелл всех трех вакцинных штаммов RB19. Создана нано-платформа путем экспрессии в растениях гена, кодирующего поверхностные антигены.

Получен патент Республики Казахстан: 1 патент на полезную модель «Способ получения бруцеллезного антигена для диагностики и профилактики бруцеллеза сельскохозяйственных животных». «Национальный институт интеллектуальной собственности» №35533. 25.02.2022.

Он основан на технологии производства вирусных частиц *VLPs*/антигенных пептидов в растениях и технологии флуоресцентной поляризации для определения антител против бруцеллеза в крови, сыворотке, плазме и молоке.

Тест основан на пептидных последовательностях, имитирующих вакцинные штаммы *B.abortus RB19*, которые соединяются с участками

вирусных частиц VLP для последующего синтеза в растениях. Новый диагностический набор *Viron-Brucella*, вырабатываемый растением очищается и используется в качестве вирусно-белкового комплекса для диагностики.

Наша нано-платформа для создания диагностического набора обеспечит раннюю, быструю и точную диагностику путем обнаружения антител против поверхностных антигенов бруцелл всех трех вакцинных штаммов *RB19*. Самое главное, что набор позволит дифференцировать больных бруцеллезом животных от вакцинированных.

Использование *VLP* позволяет нам достичь чувствительности и специфичности, отсутствующие в текущих производствах бруцеллезных антигенов.

**Описание основных результатов исследования.** Основные результаты исследований отражены в 8 печатных работах, 3 из которых опубликованы в изданиях, рекомендованных Комитетом МОН РК, 1 статья входящая в базу Scopus, 3 в материалах международных конференций, 1-патент Республики Казахстан.

**Обоснование новизны и важности полученных результатов.** Материалы диссертационной работы внедрить в учебный процесс докторантов специальности 6D120100 «Ветеринарная медицина» по дисциплине «Основы иммуногенетики при инфекционных болезнях животных» были внесены предложения о мерах.

**Соответствие направлениям развития науки или государственным программам.** Работа выполнялась с 2018 по 2020 гг. в рамках научного проекта по бюджетной программе 217 «Развитие науки» на тему: «Разработка диагностического набора ViroN-Brucella для оздоровления территории Республики Казахстан от бруцеллеза крупного рогатого скота» (№ AP05135949).

**Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации.** Выполненная лично автором диссертация на соискание степени PhD является завершенным научно – исследовательским трудом и отвечает требованиям, предъявляемым комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан. Достоверность результатов исследований диссертационной работы и обоснованность экспериментальных работ подтверждены фотоматериалами, полученными инновационными патентами, авторскими свидетельствами.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 75 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения и заключения. Работа содержит 119 источников использованной литературы, 15 приложений, 6 таблиц и 11 рисунков.