

«Сейфуллин окулары – 18(2): «XXI ғасыр ғылыми - трансформация дәуірі» халықаралық ғылыми - практикалық конференция материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения - 18(2): «Наука XXI века - эпоха трансформации». - 2022.- Т.І, Ч.ІІ.- Б. 132-133.

ТРИХИНЕЛЛЕЗГЕ ТЕЛІМДІ АНТИДЕНЕЛЕР МЕН КОЛЛОИДТЫ АЛТЫН НАНОБӨЛШЕКТЕРІНІҢ КОНЬЮГАТЫН ДАЙЫНДАУ

*А.С. Жумат 2-курс магистранты
Н.Н. Ғұбайдуллин 1-курс магистранты
А.Х. Жумалин., жетекші ғылыми қызметкер
Ө.С. Әкібеков МЖБ қауымдастырылығын профессор
С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Астана қ.*

Трихинеллез әртүрлі табиғи аймақтарда кең таралған қауіпті гельминтозооноздардың бірі. Бұл инвазивті ауру, медициналық және ветеринариялық проблема болып табылады, сондықтан көптеген елдерде осы проблема бойынша кешенді ветеринариялық-медициналық-биологиялық зерттеулер жүргізіледі [1].

Трихинеллоскопиялық зерттеу трихинеллез инфекциясын балаудың және алдын-алудың дәстүрлі әдістерінің бірі болып табылады. Трихинеллездың түпкілікті диагнозын бұлшық ет биопсиясы үлгілерінде балаңқұрттарын немесе трихинеллаға арнайы антиденелерді анықтау арқылы қоюға болады [2].

Сонымен қатар, әр түрлі серологиялық әдістер трихинеллез індетін анықтаудың ең жылдам әдісі болып табылады. Көбінесе індеттің алғашқы 2-8 аптасында антиденелер анықталмайды, сондықтан алғашқы рет тексері барысында теріс нәтиже алынса, зерттеуді әр апта сайын қайталайды [3]. Серологиялық зерттеулерді жүргізу үшін арнайы қондырғылармен жабдықталған зертханалар қажет.

Жоғарыда айтылғандарды ескере отырып, қымбат құрал-жабдықтарды қажет етпейтін трихинеллез індетін анықтау үшін жедел-тест жасау бойынша міндетқойдық. Осындай жедел тесттердің бірі иммунды хроматографиялық тест болып табылады. Иммунохроматографиялық талдау (ИХА) – антиген мен биологиялық материалындағы оған сәйкес антидене арасындағы реакцияға негізделген сапалы талдау болып табылады. Оның компоненттерінің иммунохимиялық әрекеттесуі тез жүреді және 15-20 минут ішінде реакция нәтиженің алуға мүмкіндік береді [4]. Мұндай тесттерді әзірлеу бірнеше компоненттерді жасауды талап етеді, олардың ең негізгісі конъюгат (коллоидты алтынмен таңбаланған телімді антиденелер) болып табылады.

Жұмыстың мақсаты – трихинеллезге телімді антиденелер мен коллоидты алтын нанобөлшектерінің конъюгатын дайындау.

Зерттеу материалдарымен әдістері.Трихинеллезге телімді қоянның қан сарысуы және өлшемі 20 нм коллоиды алтын (КА) нанобөлшектері - Gold nanoparticles (Sigma-Aldrich, АҚШ), бұқа сарысуының альбумині (БСА) (Sigma), Tris-HCl буфері қолданылды. Антиденелерді тазалау «Protein А» (Thermo Fisher Scientific, АҚШ)аффинды хроматография колонкасы көмегімен жүргізілді.Антидене конъюгаттары мен коллоидты алтын нанобөлшектерін дайындау үшін 2 әдіс қолданылды.

Бірінші әдіс. КА ерітіндісінің рН-ы калий карбонатымен 8.5-ке жеткізілді, содан кейін рН 8.5 болатын 10 мм Tris-HCl буферіндегі антиденелер мен БСА ерітінділері тамшылатып қосылды. Инкубациядан кейін 30 минут ішінде алынған конъюгатты байланыспаған антиденелерден үш рет 10000 айн/мин центрифугалау арқылы 30 минут ішінде тазарту жүргізілді [5].

Екінші әдіс. 10 мл коллоидты алтын ерітіндісінің рН 7,0-7,5 жеткізіп, 1 мл антидене ерітіндісін тамшылатып қосып 30 минут бойы араластырамыз. Содан кейін алынған ерітіндіге соңғы концентрацияға дейін 1% БСА және Tris-HCl қосылды. Байланыспаған антиденелерден тазалау үшін конъюгат центрифугаланады (30 мин, 11000 айн/мин, 4°C). Тұнба үстіндегі сұйықтық алынып тасталады, тұнба қажетті мөлшерде 1% БСА қосылған Tris-HCl буферімен қайта ерітіледі. Дайын конъюгат +4°C температурада сақталды [6].

Конъюгаттардың иммуноактивтілігі нитроцеллюлоза мембранасында (НЦМ) «нүктелік» қойылымы арқылы тексерілді. Трихинеллездің антигені нитроцеллюлоза мембранасының жолақтарына 1:1 сұйылтудан бастап фосфатты тұз ерітіндісінде (ФТЕ) титрленіп 1 мкл мөлшерінде енгізілді. Бейспецификалық адсорбция болдырмау мақсатында, НЦМ Blocking buffer (Sigma) көмегімен бекітілді. Реакцияның әр сатысында НЦМ жолақшалары Tween-20 қосылған ФТЕ буферінде 3 рет жуылды. Реакцияның келесі сатысында екі әдіс бойынша дайындалған конъюгат ерітінділері енгізіліп, 15 минут бойы термостатта инкубацияланды. Реакция нәтижелері визуалды түрде бағаланды, нәтижесінде 1-әдіс бойынша дайындалған конъюгат антигенмен байланысқа түскен жоқ, ал 2-әдіс бойынша дайындалған конъюгат антигенмен 1:16 сұйылтымында байланысты.

Жасалған жұмыстардың нәтижесінде коллоидты алтын мен трихинеллезге телімді антиденелердің конъюгаттарын алу әдістері оңтайландырылып, конъюгаттардың қажетті мөлшері алынды. Осылайша, трихинеллезге телімді антиденелер мен коллоидты алтын нанобөлшектерінің конъюгаты дайындалды және алынған конъюгаттар трихинеллез індетін балау үшін иммунохроматографиялық тест құрастыруда қолданылады.

Зерттеу жұмыстары Қазақстан Республикасының Ғылым және Жоғары білім министрілігі қаржыландыратын № АР09058176 «Трихинеллезді балауға арналған экспресс – тест» ғылыми жоба тақырыбы аясында С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің Ауылшаруашылық Биотехнологиясының Ғылыми-Зерттеу Платформасында жүргізілді

Пайдаланылган әдебиеттер тізімі:

1. Zarlenga, D., Thompson, P., Pozio, E., 2020. Trichinella species and genotypes. Res. Vet. Sci. 133, 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.08.012>.
2. Gottstein B, Pozio E, Nöckler K. Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis [Text] / Clin Microbiol Rev. – 2009. - №22. - P. 127–45.
3. Pozio, E., 2016. Adaptation of Trichinella spp. for survival in cold climates. Food Waterborne Parasitol. 4, 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2016.07.001>.
4. Byzova N. A., Rapid pretreatment-free immunochromatographic assay of chloramphenicol in milk [Text] / Zvereva E. A., Zherdev A. V. Eremin S. A., Dzantiev B. B. // Talanta. – 2010. – № 3.– С. 843-848.
5. Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions [Text] / Nature Phys. Sci. – 1973. – №241. – С. 20-22.
6. Дыкман Л. А. Коллоидное золото в биохимических и микробиологических исследованиях [Текст] / Дисс. на соиск. уч. ст. докт. биол. наук. – Саратов, - 2006. – С. 135.