

« М.А. Гендельманның 110 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары – 19» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясының материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 19» посвященной 110 - летию М.А. Гендельмана» - 2023.- Т.І, Ч.ІІ.- Б.210-212

ӘОЖ 632.938: 576.8(043.2)

ӘРТҮРЛІ ТРИХИНЕЛЛА ТҮРЛЕРІН СЕКВИРИЛЕУ ҮШІН ОЛИГОНУКЛЕОТИДТЕРДІ ТАҢДАУДЫҢ БИОИНФОРМАТИКАЛЫҚ ТАЛДАУЫ

*Ғұбайдуллин Н.Н., Асқарова Н.Н., магистранттар
Гаджимурадова А.М., С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық
Зерттеу университеті АшБ ҒЗП Ғылыми қызметкері
Әкібеков Ө.С., МжБ кафедрасының қауымдастырылығын профессор
С.Сейфуллин атындағы Қазақ Агротехникалық зерттеу
университеті, Астана қ.*

Трихинелла түрін немесе генотипін анықтау мүмкіндігі эпидемиологиялық зерттеулер үшін ғана емес, сонымен қатар бүкіл әлемде болып жатқан ауру көзін дәлірек анықтау үшін өте маңызды. Бұл соңғы жылдары ет өнімдерінің импортының артуын және жабайы табиғаттың үй және орман тарату циклдарында ойнайтын қарым-қатынасын ескере отырып, одан да маңызды болды. *Trichinella* тұқымы осы жылға дейін бір түрлі болып саналып келген, алайда, соңғы жылдардағы зерттеулер бұл тұқымның 9 түрден және кем дегенде 3 қосымша генотиптен тұратынын көрсетті, олардың атаулары әлі аталмаған. *Trichinella pseudospiralis*, *trichinella zimbabwensis* және *Trichinella parvae* сияқты түрлерді қоспағанда, бұл тұқымның барлық мүшелері морфологиялық тұрғыдан ерекшеленбейді. Осылайша, идентификация ПТР қолдануға және ерекше жағдайларда ДНҚ секвенирлеуіне немесе рестрикция ферменттерінің ыдырауына дейін азайды. Әр генотипке тән ПТР праймерлерінің жиынтығын пайдаланудың орнына, түрлерді анықтау үшін әмбебап праймерлерді пайдалану ең үнемді және идентификацияның жылдам әдісі болып табылады[1].

ПТР-бұл нуклеотидтердің бастапқы және соңғы тізбегі белгілі нуклеин қышқылдарының белгілі бір фрагменттерін (олигонуклеотидтер жұбы) амплификациялауға мүмкіндік беретін молекулалық биология әдісі. Егер түрдің (немесе генотиптің) өзіне тән ДНҚ бөлімі болса, оның құрамына немесе мөлшеріне байланысты оның амплификациясын қамтамасыз ететін олигонуклеотид жұбын таңдауға болады. ПТР жоғары сезімталдық пен телімділікке ие.

ПТР әдісін адам биопсиясынан немесе жануарлардың бұлшықет тіндерінен жиналған трихинелла дернәсілдерінің түрін анықтау үшін қолдануға болады.

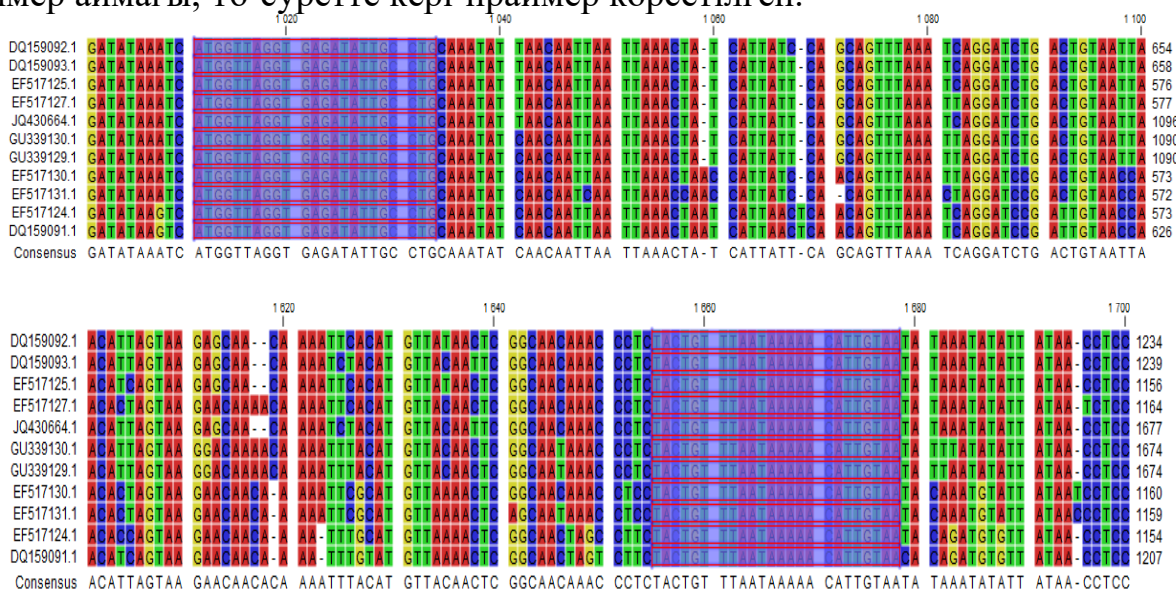
Жұмыстың мақсаты – жұмыстың мақсаты ПТР және секвенирлеу арқылы трихинеллалардың әртүрлі түрлерін анықтау үшін әмбебап праймерлердің дизайнын биоинформатикалық талдау.

Зерттеу материалдары мен әдістері. Трихинеллалар түрлерді анықтау үшін GenBank дерекқорын қолдана отырып, арнайы праймерлер таңдалды. SLS Sequence Viewer 8.0 бағдарламалық жасақтамасының көмегімен трихинеллалардың 5 түрінің нуклеотидтер тізбегін туралауды және праймер дизайны үшін аймақты таңдауды жүзеге асырды. Праймерлерде шпилька, димерлер пайда болу мүмкіншілігін анықтау үшін genscript.com, internationalneb.com, thermofisher.vom, bioinformatics.nl және bio.bsu.by онлайн желілері қолданылды.

Нәтижелер.

Секвенирлеуді жүргізу үшін негізгі гендер ретінде цитохром Б (cob) генінің тізбегі және суббірліктің цитохром оксидазасы III (cox3), рибосомалық РНҚ-ның кіші суббірлігі, тРНК-Ser гендері, тРНК-Val және рибосомалық РНҚ-ның үлкен суббірлігі, 6-шы суббірліктің АТФ синтаза гені (atp6) қолданылады. Әмбебап праймерлерді жобалау үшін келесі түрлердің нуклеотидтер тізбегі қолданылды: *Trichinella spiralis* (GU339130.1) [2], *Trichinella spiralis* (GU339129.1), *Trichinella britovi* (DQ159092.1), *Trichinella native* (DQ159093.1), *Trichinella sp.* (JQ430664.1), *Trichinella nelson* (EF517127.1), *Trichinella murrelli* (EF517125.1), *Trichinella papuae* (EF517130.1), *Trichinella pseudospiralis* (EF517124.1), *Trichinella pseudospiralis* (DQ159091.1), *Trichinella zimbabwensis* (EF517131.1).

Трихинеллалардың аталған түрлерінің нуклеотидтер тізбегін теңестіргеннен кейін рибосомалық РНҚ-ның кіші және үлкен суббірліктерінің тізбегіне праймер дизайны жасалды. 1а-суретте түзу-праймер аймағы, 1б-суретте кері-праймер көрсетілген.



Сурет 1 – Трихинеллалардың әртүрлі түрлеріне арналған олигонуклеотидтердің дизайны: а-түзу праймер, б – кері праймер.

1-ші суретте көрсетілгендей, қызылмен белгіленген аймақ тура-праймердің кіші суббірлікте 1010-1033 жұп нуклеотидтер, рибосомалық РНҚ-ның үлкен суббірлігінде 1655-1678 жұп нуклеотидтер аралығын қамтиды. Таңдалған аймақ праймерлерді қоспағанда трихинеллалардың әр түрі үшін айтарлықтай ерекшеленеді, сол арқылы праймерлерді әмбебап қолдануға мүмкіндік береді.

Әр түрлі онлайн-бағдарламалардың көмегімен праймерлер шпилькалар мен димерлердің пайда болмауына тексерілді. Екі праймердің балқу температурасы, G/C және A/T азотты негіздерінің % - ы анықталды.

The screenshot displays two primer analysis panels. The left panel is for primer 'F' (5'-TTA CAA TOT TTT TAT TAA ACA GTA-3') and the right panel is for primer 'R' (5'-ATG GTT AGG TGA GAT ATT GCC TG-3'). Both panels show a GC content of 17% for primer F and 43% for primer R. The melting temperature (Tm) is calculated as 52°C for primer F and 53°C for primer R. Thermodynamic constants are also provided, such as Rlnk (33.404 and 33.404 cal/(°C*mol)), deltaG (23.8 and 27.8 Kcal/mol), and deltaH (178.4 and 178.2 Kcal/mol).

Сурет 2 – Праймерлердің генотипке сәйкестігін тексеру: А-тікелей праймер; б-кері праймер

Кесте 1. Жасалған праймерлердің сипаттамасы

№	Праймер атауы	Нуклеотидтік тізбек 3'→5'	Ген атауы	Балқу температура, °C	Азотты негіздердің % көрсеткіші
1	Trich_Seq_F	ATGGTTAGGTGAGATATTGC CTG	ssrRNA	52	43
2	Trich_Seq_R	TTACAATGTTTTATTAAACA GTA	lsrRNA	53	17

Екі праймер үшін де оңтайлы балқу температурасы анықталды-53°C. Тура-праймердегі G/C негіздерінің мазмұны – 17%, кері-праймерде – 43% құрайды. Алынатын ПТР өнімнің мөлшері 669 ж.н..

Осылайша, биоинформатикалық әдістерді қолдана отырып, *Trichinella spp.* секвенирлеу және одан әрі түрлерді анықтау үшін әмбебап праймерлердің дизайны жасалды. Праймерлер рибосомалық РНҚ-ның кіші және үлкен суббірліктерінің аймағын қамтиды.

Зерттеу жұмыстары Қазақстан Республикасының Ғылым және Жоғары білім министрлігі қаржыландыратын № AP14870972 «*Trichinella spp.* рекомбинантты антигеніне негізделген иммуноферментті тест жүйесін әзірлеу» ғылыми жоба тақырыбы аясында С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің Ауылшаруашылық Биотехнологиясының Ғылыми-Зерттеу Платформасында жүргізілді.

Әдебиеттер тізімі:

1. Pozio E. International Commission on Trichinellosis: Recommendations for genotyping *Trichinella* muscle stage larvae[Text]/ Pozio E, Zarlenga D.// Food Waterborne Parasitol. -2019 Mar -10.-P.-15.
1. Rosenthal B. Human dispersal of *Trichinella spiralis* in domesticated pigs[Text]/ Rosenthal, Benjamin; LaRosa, Giuseppe; Zarlenga, Dante; Dunams, Detiger; Chunyu, Yao; Mingyuan, Liu; and Pozio, Edoardo// Publications from USDA-ARS / UNL Faculty. -2008- P.-2255.