

«Food quality and food safety» (FQFS) (Тамақ өнімдерінің сапасы мен қауіпсіздігі) Халықаралық ғылыми конференцияның материалдары 20-22 қыркүйек, 2023 = «Food quality and food safety» (FQFS)(Качество и безопасность продуктов питания) материалы международной научной конференции 20-22 сентября, 2023= «Food quality and food safety» (FQFS) materials of the international scientific conference 20-22 september,2023. – Астана: КАТИУ им. С. Сейфуллина, 2023. – С.49-51

ӘОЖ 632.938: 576.8(043.2)

## ***T. SPIRALIS* СЕРИН ПРОТЕИНАЗАСЫН ЖАНУАРЛАРДЫҢ ТРИХИНЕЛЛЕЗІН БАЛАУДА ҚОЛДАНУ МҮМКІНДІГІ**

*Ғұбайдуллин Н., 2-курс магистранты*

*Асқарова Н.1-курс магистранты*

*Гаджимурадова А.М.,*

*АшБ ҒЗП ғылыми қызметкері*

*Әкібеков Ө.С., МжБ кафедрасының қауымдастырылығын профессоры*

*С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті,  
Астана қ., Қазақстан*

*Trichinella* тұқымдасына жататын үй және жабайы сүтқоректілердің 150-ден астам түрін жұқтыруға қабілетті 10 түр мен 3 генотипті біріктіреді. Адам трихинеллезді құрамында трихинелла личинкалары бар шикі немесе дайын емес етті жеу арқылы жұқтыруы мүмкін.

Бүгінгі күнге дейін диагностиканың негізгі әдістері-трихинеллаларға телімді антиденелерді анықтауға арналған вестерн-блотинг және ИФТ сияқты серологиялық сынақтар болып табылады.

Трихинеллезді балау үшін ең көп қолданылатын антигендер бұлшықет балаңқұртарының экскреторлық-секреторлық (ЭС) антигендері болып табылады, алайда бұл антиген басқа паразиттермен айқас реакциялары жиі кездеседі. Балаңқұрттың дамуының әр сатысында әртүрлі ақуыздар экспрессияланады. Осыған байланысты инфекцияның алғашқы кезеңдерінде жалған теріс нәтижелердің байқалатынын және антиденелерінің ішек сатысындағы трихинелла балаңқұрттарын анықтамайтындығын түсіндіреді.

Себебі ақуыздың биологиялық қызметі көбінесе ақуыздың кеңістіктік құрылымына байланысты. *T. spiralis* дамуының әр сатысында әртүрлі антигендер экспрессияланады. Жалпы, ересек балаңқұртта 4691 ақуыз тобы анықталған, бұлшықет сатысында жаңа туған балаңқұрттарда 1067 ақуыз экспрессияланатыны анықталды. Яғни паразиттің өмір циклінің барлық кезеңдерінде экспрессиялануға қабілетті ақуыз трихинеллезді балауда ең өзекті және перспективалы болады деп есептеледі.

Трихинелла дамуының әртүрлі кезеңдерінде экспрессияланатын негізгі ақуыздар сериндік протеазалар болып табылады, олар құрттардың

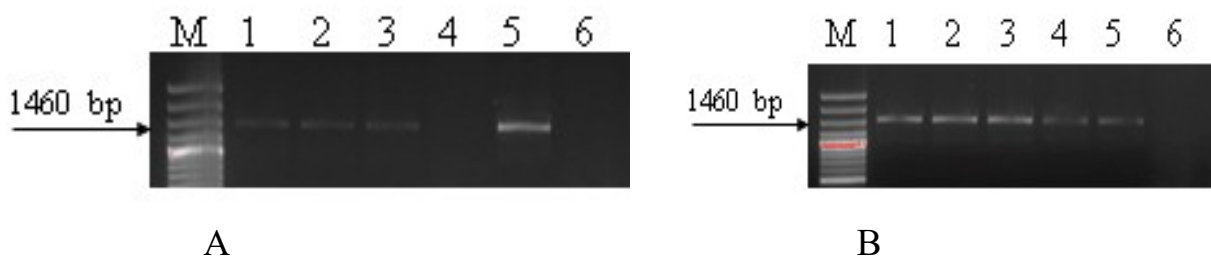
инвазиясына, миграцияға және иесінің әртүрлі тіндерінің протеолизіне қатысады. Олар ауруды ерте балау үшін серологиялық және молекулалық сынақтарды жасау үшін маңызды мақсатты антигендер болуы мүмкін.

Біздің зерттеуіміздің мақсаты балаңқұрттың дамуының әртүрлі кезеңдерінде сериндік протеазаның экспрессиясын талдау және рекомбинантты ақуызға негізделген сынақ жүйесін әзірлеу мақсатында осы протеазаның құрылымы мен кеңістіктік конфигурациясын болжау.

Зерттеудің бірінші кезеңінде зертханалық ақ тышқандардың 2 тобы трихинеллездің балаңқұрттарымен жұқтырылды. 1 және 2 топтағы тышқандарда жаңа бөлінген балаңқұрттармен жұқтырылғаннан кейін 7 және 14 күннен кейін тышқан асқазан-ішек жолдарын және бұлшықеттерін трихинеллаларға тексеру жүргізілді. Берман әдісімен ішектен тірі жаңа туған балаңқұрттар жиналып алынды.

Жұқтырудан кейінгі әртүрлі уақыт кезеңдерінде балаңқұрттардың дамуының нақты кезеңін зерттегеннен кейін, алынған балаңқұрттардың барлық 12 үлгісінен РНҚ бөлініп алынды.

РНҚ-ның орташа концентрациясы 87,3 нг/мкл болды. Кері транскрипция реакциясы арқылы кДНК синтезі жасалды, кейін арнайы праймерлерді қолдану арқылы кДНК мен ПТР жүргізілді. ПТР реакциясының нәтижесі 1 суреттегі электрофореграммада көрсетілген.



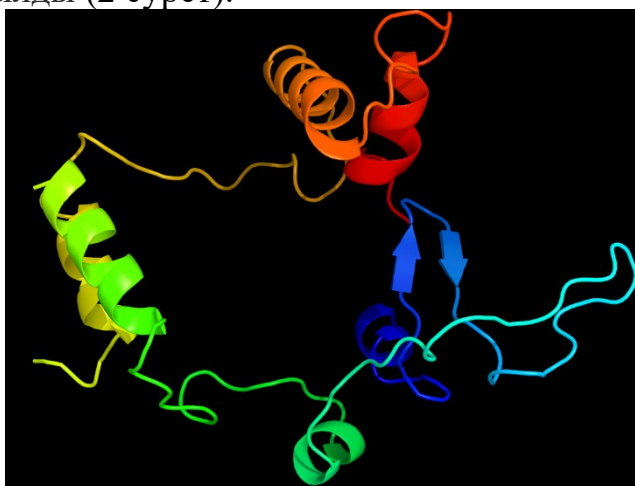
1- сурет- Балаңқұрттардағы сериндік протеаза генінің транскрипттерін анықтауға қойылған ПТР электрофореграммасы; 7 күн (А) және 14 күн (В) 1-4 сынамалар, 5- оң бақылау, 6- теріс бақылау

Молекулалық зерттеулерге сәйкес, жұқтыру дозасы мен кезеңіне қарамастан тышқандардың барлық 2 тобында сериндік протеаза транскрипттері анықталды. Дамудың және капсуланың әртүрлі кезеңдерінде таңдалған балаңқұрттардың 83%-ында сериндік протеаза генінің транскрипттерінің бар екені анықталды. Нәтижелер көрсеткендей сериндік протеазалардың ие ағзасындағы *T. spiralis* инвазиясында, өсу сатысында және өмір сүруінде шешуші рөл атқаратынын және олар вакциналар жасауға және трихинеллезді балауға мүмкіндік беретін негізгі ақуыз болуы мүмкін екенін көрсетті.

Сериндік протеаза генінің секвенирленгеннен кейін нуклеотидтер тізбегі анықталды (1450 ж.н.). Геннің нуклеотидтер тізбегі негізінде ақуыздың аминқышқылдарының тізбегі құрылды: MKRWHNPFQIPFHNAFLFCIHKETFSQYCGNPYFEPYLTNPHYSNQIVGEW

VARPYSFPWTVHVLAHISGFWYESC GGSLISFDYTNASDTVLTSSHCVRVN  
NRLVDANAIVTAGAFNIRELNEPHRVTSKVLAYMSDNFGDVGKPNDA  
MLRLKVKIPHSYISSVCLPYPFQEIPYGETCFLSGWGFTRGRPLSELRQVGI  
PILRSSNCRFTDAYDIFCAGDMGEGNYSFQIDSGGPLVCKLND SYVQIGIVS  
FGYNHAGKHHPGIYSKVPYYLNWIYNQLSWLPDSFNSSDIGGEESDCPDD  
CYHPWRSVFKHFKHRKASFRNRPPYSHSLRLTMNENRPPPPPSQNFDM  
SLESTEGDPSDWSPYSTNQHYQSNYDGSQTGKGNRPPYSHSHRPTMNENR  
PPPPPSQNFDSNY

Phyre2 бағдарламасы көмегімен балаңқұрт кутикуласының мембраналық құрылымындағы ақуыз суббірліктерінің кеңістіктік конфигурациясы құрылды (2 сурет).



2- сурет- Ақуыздың кеңістіктік құрылымы

Жүргізілген зерттеулердің нәтижелері бойынша сериндік протеаза ішек инфекциясы сатысында да, трихинеллалардың бұлшықет балаңқұрт сатысында да болатыны анықталды. Сериндік протеаза транскриптері жұқтырғаннан кейін 7-ші және 14-ші күні тышқандардың 83%-ында табылды. Бұл нәтижелер сериндік протеаза трихинеллезды серологиялық әдістермен ерте балау үшін өзекті ақуыздардың бірі екенін айқындалды.

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 зерттеу университетінің Ауылшаруашылық биотехнологиясының ғылыми-өндірістік платформасында жүргізілді.

### Пайдаланылған әдебиеттер тізімі

1 *Trichinella* infection in wild animals from endemic regions of Argentina [Text]/ Ribicich M, Gamble HR, Bolpe J, Scialfa E, Krivokapich S, Cardillo N, Betti A, Holzmann ML, Pasqualetti M, Fariña F, Rosa A. - parasitol res, -2010.1 -№07(2). -P.377-80.

2 Pozio E. The broad spectrum of *Trichinella* hosts: from cold- to warm-blooded animals: vet parasitol [Text]/ E. Pozio, -2005. - №132(1-2). -P.3-11.

3 Cloning and Expression of a New *Trichinella spiralis* Serine Protease and Its Role in Invading Host Intestinal Epithelium [Text]/ Liu F, Song YY, Zhang R, Liu RD, Jiang P, Cui J, Wang ZQ. - Iran J Parasitol, -2022. -№17(3). - P.375-384.

4 Immune responses in mice vaccinated with a DNA vaccine expressing serine protease-like protein from the new-born larval stage of *Trichinella spiralis*. Parasitology[Text]/ Xu J, Bai X, Wang LB, Shi HN, Van Der Giessen JWB, Boireau P, Liu MY, Liu XL. – 2017. -№144(6). -P.712-719.

5 RNAi-mediated silencing of *Trichinella spiralis* serpin-type serine protease inhibitors results in a reduction in larval infectivity [Text]/ Yi, N., Yu, P., Wu, L. et al. - Vet Res 51, 2020. -P.139.