

активного участника мирового процесса самоорганизации, способного вносить изменения в характер течения исторического процесса.

Н.Н. Моисеев верит в то, что появятся новые люди, которые будут вкладывать свои частные средства на развитие образования и науки с целью качественного изменения самого видения смысла современного образования, насыщения его экологическими знаниями.

ЛИТЕРАТУРА: 1. См.: Моисеев Н.Н. Коэволюция природы и общества. Пути ноосферогенеза // Экология и жизнь, № 2-3, 1997. – С. 7; 2. См.: Моисеев Н.Н. Думая о будущем // Экология и жизнь, № 1, 2002. – С. 5; 3. Цит. по: Моисеев Н.Н. Сохранить человечество на земле // Экология и жизнь, № 1, 2000. – С. 12; 4. См.: Моисеев Н.Н. Экологическая политика и математика // Экология и жизнь, № 4, 2002. – С. 6; 5. См.: Моисеев Н.Н. О мировоззрении и миропонимании // Экология и жизнь, № 4, 1999. – С. 8.

О НЕКОТОРЫХ ИДЕЯХ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО УЧЕНИЯ Н.Н. МОИСЕЕВА

Шафигуллин В.А.
Резюме

Опираясь на синтез естествознания и гуманитарных дисциплин, необходимо строить стратегию совместного развития природы и общества, которая должна стать научной базой для судьбоносных экологических решений для человечества.

ABOUT SOME IDEAS OF N.N. MOISEEV'S ECOLOGICAL STUDIES

Shafigullin V. A.
Summary

Basing on synthesis of the natural sciences and the humanities, it is necessary to build a strategy of nature and society joint development, that should become the scientific base for crucial ecological solutions for humanity.

УДК619:616.98:636.2:577.112.6:547.96

МИКОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ АНТИГЕНЫ: СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ И РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ

Шуралев Э.А. – к.в.н., с.н.с.
Казанский (Приволжский) федеральный университет
тел.: (843) 233-75-10

Ключевые слова: mycobacterium tuberculosis; Mycobacterium bovis; туберкулез; серологические методы.

Keywords: mycobacterium tuberculosis; Mycobacterium bovis; tuberculosis; serological methods.

Ситуация по туберкулезу в Российской Федерации остается напряженной. С точки зрения эпидемиологического и эпизоотологического подходов *Mycobacterium tuberculosis* и *M.bovis* являются наиболее опасными видами возбудителя туберкулеза. Для более совершенного контроля распространения инфекционных заболеваний необходимы инновационные подходы с использованием современных иммуноаналитических и молекулярно-биологических методов.

При туберкулезной инфекции немаловажное значение имеет изучение гуморального иммунного ответа, а использование рекомбинантных антигенов и синтетических пептидов их эпитопов позволит усовершенствовать методы диагностики и мониторинга патогенеза инфицированных животных и человека. Одним из наиболее эффективных методов для этих целей является предлагаемый нами мультиплексный иммуноанализ, позволяющий проводить скрининг к нескольким антигенам одновременно, с последующей комбинированной интерпретацией результатов [1].

Нами изучен ряд микобактериальных антигенов, обладающих иммуногенными свойствами. Полученные результаты, опубликованные нами ранее, показали высокую специфичность и чувствительность мультиплексного хемилюминесцентного анализа с применением микобактериальных антигенов при диагностике туберкулеза у разных видов животных, в том числе и для дифференциации инфицирования патогенным возбудителем от природных изолятов микобактерий [2, 3, 4]. Мультиплексный вариант иммуноанализа подразумевает использование различных антигенов, которые вступают в иммунологические реакции со специфическими антителами, продуцируемые на различных этапах развития патогенеза туберкулеза. При экспериментальном заражении животных микобактериями туберкулеза с последующим исследованием динамики постинфекционного антителогенеза доказано, что такие биомаркеры как ESAT-6, CFP-10 обнаруживаются на ранних стадиях инфекции, в то время как MPB70 и MPB83 – на более поздних. Используя методы биоинформатики и геной инженерии были получены рекомбинантные белки-аналоги указанных белковых антигенов возбудителя туберкулеза. Рекомбинантные антигены использовали для сенсбилизации планшет мультиплексной тест-системы с целью создания набора диагностикумов для индикации инфицирования животных патогенными микобактериями.

На рисунке 1 представлены результаты, полученные после экспериментального заражения вапити (*Cervus elaphus nelsoni*), подвида благородного оленя, полевым штаммом *M.bovis*, выделенным из коровы в

провинции Манитоба, Канада. Антителогенез к отдельным микобактериальным антигенам проявлялся в различные сроки постинфекционного патогенеза, при этом уровень антител в сыворотке крови животного оставался на высоком уровне до конца сроков наблюдения (более 6 месяцев). Подробные результаты данного исследования будут представлены в наших дальнейших публикациях.

Для диагностики, и в особенности для изучения патогенеза, вызванного микобактериями, целесообразно использовать несколько биомаркеров, которые следует включать в тест-систему в виде рекомбинантных антигенов. Помимо вышеуказанных, предлагается использовать биомаркеры свойственные разным видам микобактерий, позволяющие проследить ход развития инфекционного процесса, такие как α -Crystalin_2, PE35, PPE68, Rv1573c, HspX, Rv1580c и другие.

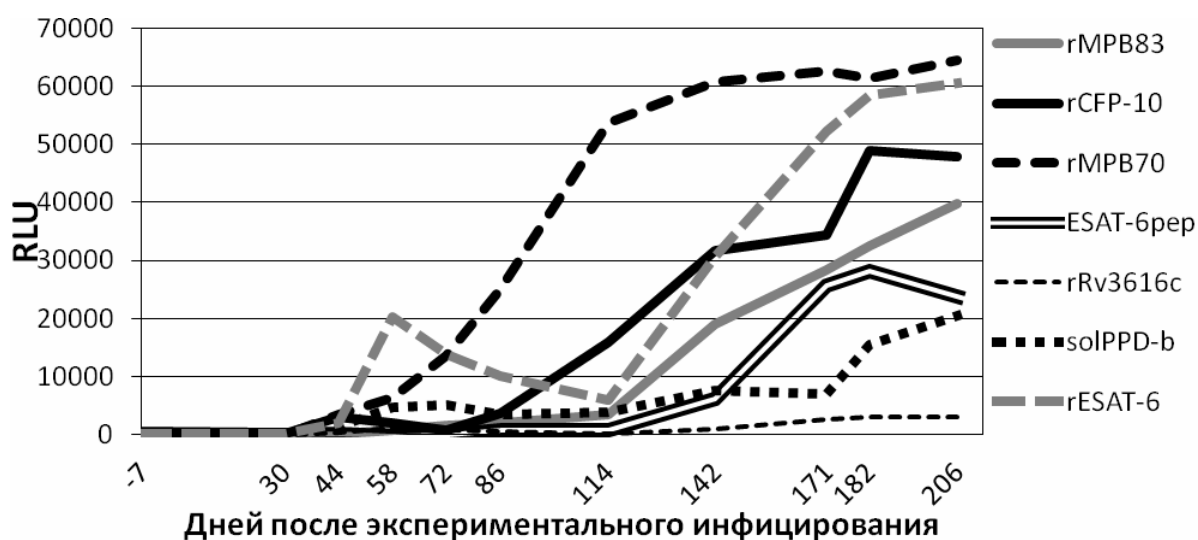


Рис. 1. Антителогенез у вапити, экспериментально зараженного *M.bovis*.

Еще одним направлением в создании диагностикумов нового поколения являются синтетические пептиды. Используя методы биоинформатики нами были выявлены по 2-6 иммунных эпитопа микобактериальных антигенов Rv3616c, ESAT-6, CFP-10, MPB70 и MPB83, пептиды которых были синтезированы. Пептидные последовательности аминокислот некоторых из указанных антигенов представлены в рисунке 2. Результаты исследований показали, что разные виды животных по-разному реагируют на отдельные эпитопы микобактериальных антигенов. В связи с этим мультиплексный иммуноанализ, позволяющий использовать несколько анализов одновременно, является наиболее эффективным для диагностики и изучения патогенеза с использованием как пептидов, так и рекомбинантных антигенов.

Полученные данные коррелируют с исследованиями других ученых.

При постановке кожной аллергической пробы рекомендуется заменить широко используемый и не поддающийся стандартизации туберкулин на смесь рекомбинантных белков и пептидов антигенов ESAT-6, CFP-10 и Rv-3615c *M.tuberculosis* [6]. Антиген 16 kDa HSP *M.tuberculosis* предлагается использовать для производства новых диагностических моноклональных антител, основанных на мультиплексном подходе [8]. Мультиантигенный принт-иммуноанализ с использованием нескольких специфичных туберкулезных антигенов показал высокую диагностическую эффективность [7]. Иммуноблот анализ сывороток крови на выявление фракции 60 kDa в ДМСО-антигене *M.bovis* может служить диагностическим тестом при туберкулезе у крупного рогатого скота [5].

```
SEQ ID NO: 4 - residues 1-34 of Rv3616c:  
MSRAFIIDPTISAIDGLYDLLGIGIPNQGGILYS  
SEQ ID NO: 7 - PEP1 (MPB70):  
KGSGSSVQGMSQDPVAVAASNNPEL  
SEQ ID NO: 12 - PEP9 (CFP10)  
KGSGSNIRQAGVQYSRADEEQQQ  
SEQ ID NO: 9 - Rv3875 (ESAT6):  
TEQQWNFAGIEAAASAIQGNVTSIHSLLDGKQSLTKLAAAWGGSGSEAYQG  
VQQKWDATATELNNALQNLARTISEAGQAMASTEAGNVTGMFA
```

Рис. 2. Последовательность аминокислот синтетических микобактериальных пептидных антигенов

Постановка диагноза при туберкулезе в современных условиях требует комплексного подхода с учетом эпидемических, клинических, иммунологических и рентгенологических данных, что позволит предотвратить развитие осложненных и генерализованных форм заболевания. Использование мультиплексного иммуноанализа сывороток крови с применением различных рекомбинантных антигенов и синтетических пептидов позволит организовать высокоэффективную диагностику, способ изучения патогенеза в организме зараженного человека, будет способствовать успешному проведению скрининговых исследований для контроля распространения туберкулеза.

ЛИТЕРАТУРА: 1. Шуралев Э.А. Мультиплексная иммуоферментная хемилюминесцентная тест-платформа для индикации биопатогенов в организмах // Народное хозяйство. Вопросы инновационного развития. – 2012. - № 1. – С. 258-261. 2. Шуралев Э.А. Сравнительный анализ тест-систем для диагностики туберкулеза у альпак // Ветеринарный врач. – 2012. – №5. – С.30-33. 3. Шуралев Э.А., Мукминов М.Н., Валеева А.Р. и др. Оценка специфичности антигенов для

диагностики туберкулеза кабана // Ветеринария. – 2013. – №2. – С.25-28.

4. Шуралев Э.А., Ндайишимийе Э.В., Мукминов М.Н. К вопросу серологической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота // Ученые записки КГАВМ им.Н.Э.Баумана. – 2012. – Т.211. – С.202-206.

5. Якупов Т.Р., Хаертдинов К.С. Иммуноблот анализ в диагностике туберкулеза. // Ветеринарный врач. – 2011. – №1. – С.29-31.

6. Casal C., Bezos J., Díez-Guerrier A., et al. Evaluation of two cocktails containing ESAT-6, CFP-10 and Rv-3615c in the intradermal test and the interferon- γ assay for diagnosis of bovine tuberculosis. // Prev Vet Med. – 2012. – V.105, №1-2. – P.149-154.

7. Ireton G.C., Greenwald R., Liang H., et al. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* antigens of high serodiagnostic value. // Clin Vaccine Immunol. – 2010. – V.17, №10. – P.1539-1547.

8. Trilling A.K., de Ronde H., Noteboom L., et al. A broad set of different llama antibodies specific for a 16 kDa heat shock protein of *Mycobacterium tuberculosis*. // PLoS One. – 2011. – V.6, №10. – e26754.

МИКОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ АНТИГЕНЫ: СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ И РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ

Шуралев Э.А.
Резюме

В данной работе обобщены полученные нами результаты испытаний мультиплексного иммуноанализа с применением рекомбинантных антигенов и синтетических пептидов для диагностики туберкулеза животных. Указывается потенциальная возможность применения метода для контроля распространения и изучения патогенеза туберкулеза.

MYCOBACTERIAL ANTIGENS: SYNTHETIC PEPTIDES AND RECOMBINANT PROTEINS

Shuralev E.A.
Summary

In this paper, author summarizes the earlier obtained results of the multiplex immunoassay studies using recombinant antigens and synthetic peptides for the diagnosis of the animal tuberculosis. It is indicated the potential of use this method for the spread of infection control and tuberculosis pathogenesis survey.