

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА CU-ZN SOD КАЗАХСТАНСКИХ ШТАММОВ БАКТЕРИИ РОДА БРУЦЕЛЛА

Казакстан штамдарынын бруцелла бактериялардын Cu-Zn SOD ген молекулярдык-генетикалык изилдөө

Molecular genetic analysis of the gene (Cu-Zn SoD) of Kazakhstan bacteria strains of Brucella genus are submitted

Аннотация: в данной статье представлены результаты сравнительного анализа гена супероксид дисмутаза (Cu-Zn SOD) казахстанских штаммов бактерии рода бруцелла. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена Cu-Zn SOD штаммов *Brucella abortus*, выделенных в Жамбылской области показал, что штамм *Brucella abortus* 0002/Н относящийся к 3 биовару отличается от штамма *Brucella abortus* 0001/Н заменой нуклеотида А на G в позиции 393. Штаммы *Brucella melitensis* 0003/Н, *Brucella melitensis* 0004/Н, *Brucella melitensis* 0005/Н 3 биовара, выделенные в этой же области, отличаются от штаммов *Brucella abortus* заменой в позиции 300.

Аннотация: бул кагаз урууларына *Brucella* бактериялар жана шагылдар (Cu-Zn калыбы) Казакстан штамдарды ген салыштырмалуу талдоонун жыйынтыктарын тартуулайт. Жамбыл аймактагы жалгыз Cu-Zn SOD ген *Brucella abortus* штамдарды тизилишин нуклеотид салыштырма анализи *Brucella abortus* штамды 0002/Н кызмат ордунда G үчүн нуклеотид А *Brucella abortus* штаммы 0001/Н алмаштыруу *Brucella* 3 айырмачылыктары биовар тиешелүү 393. *Brucella melitensis* штамдарды 0003/Н, *Brucella melitensis* 0004/Н, *Brucella melitensis* 0005/Н 3 биовар эле аймакта бөлүнгөн, 300 кызмат ордунда *Brucella abortus* алмаштыруу түрлөрү ар кандай.

Annotation: in present article the results of comparative analysis of superoxide dismutase gene (Cu-Zn SOD) of Kazakhstani bacteria strains of *Brucella* genus are submitted. Comparative analysis of nucleotide sequences of the Cu-Zn SOD gene of *Brucella abortus* strains isolated in Zhambyl region showed that the *Brucella abortus* strain 0002/Н relative to biovar 3 differs from the *Brucella abortus* strain 0001/Н by A-to-G substitution at nucleotide position 393. The biovar 3 strains of *Brucella melitensis* 0003/Н, *Brucella melitensis* 0004/Н, *Brucella melitensis* 0005/Н isolated in the same region differ from the *Brucella abortus* strains by substitution at position 300.

Ключевые слова: бруцеллез; супероксид дисмутаза; полимеразная цепная реакция; секвенирование; сравнительный анализ.

Негизги сөздөр: бруцеллез; супероксид дисмутаза; полимераз чынжыр жооп; секвенирование; салыштырмалуу анализ.

Keywords: brucellosis; superoxide dismutase; polymerase chain reaction; sequencing; comparative analysis

Введение

Борьба с бруцеллезом является важной проблемой здравоохранения в развивающихся странах. Бруцеллез является основной причиной, тормозящей развитие животноводства.

Применяемые в настоящее время вакцины обладают недостаточной иммуногенностью, и не создают эффективной защиты против бруцеллеза. Поэтому проводятся исследования по конструированию и совершенствованию протективных свойств имеющихся вакцин, как для людей, так и для животных. В настоящее время для получения вакцины против бруцеллеза исследования начинаются с идентификации иммуногенных белков. Многие белки бактерии *Brucella abortus* исследованы для определения их роли в иммунном ответе против бруцеллеза. Одним из таких белков является супероксид дисмутаза (Cu-Zn SOD).

Супероксид дисмутаза относится к группе антиоксидантных ферментов металлоферментов. Она защищает организм от постоянно образующихся высокотоксичных кислородных радикалов.

Периплазматический белок бруцелл Cu-Zn SOD активно участвует в индукции иммунного ответа и, следовательно, является потенциальным субстратом, на основе которых можно разработать эффективные препараты для диагностики и профилактики бруцеллеза [1,2]. Также, белок Cu-Zn SOD защищает организм от постоянно образующихся высокотоксичных кислородных радикалов. Супероксид дисмутаза катализирует дисмутацию супероксида в кислород и пероксид водорода. Таким образом, он играет важнейшую роль в антиоксидантной защите практически всех клеток, так или иначе находящихся в контакте с кислородом. Вызывает напряженный иммунитет у КРС [3, 4].

Цель данной работы - изучение молекулярно-генетических свойств гена Cu-Zn SOD для использования при создании эффективной и безопасной вакцины против бруцеллеза.

Материалы и методы

В качестве объектов исследований в работе использованы казахстанские штаммы *Brucella abortus* и *Brucella melitensis*, которые

представлены в таблице 1. Штаммы предоставлены лабораторией Микробиологии НИИПББ.

| Наименование штамма | Регионы |
|--|--|
| <i>Brucella abortus</i> 0001/Н | Жамбылская область |
| <i>Brucella abortus</i> 0002/Н | |
| <i>Brucella melitensis</i> 0003/Н | |
| <i>Brucella melitensis</i> 0004/Н | |
| <i>Brucella melitensis</i> 0005/Н | |
| <i>Brucella abortus</i> 0006/В | Алматинская область |
| <i>Brucella abortus</i> 0007/В | |
| <i>Brucella abortus</i> 0008/В | |
| <i>Brucella abortus</i> в R-форме 0009/Х | Южно-Казахстанская область |
| <i>Brucella abortus</i> ЮКО 198 212 S -ф | |
| <i>Brucella abortus</i> ЮКО 2535 S -ф | |
| <i>Brucella abortus</i> ЮКО198767578 S-ф | |
| <i>Brucella abortus</i> Алаколь1, S -ф | Алматинская область, Галдыкорганский регион |
| <i>Brucella abortus</i> Алаколь 2, S -ф | |
| <i>Brucella abortus</i> Атырау 88, S -ф | Атырауская область |
| <i>Brucella abortus</i> СКО,S -ф | Северо-Казахстанская область |
| <i>Brucella abortus</i> 544, 7 пассаж в S -ф | |

Таблица 1 – Казахстанские штаммы бактерии рода *Brucella*

Выделение бактериальной ДНК. Выделение бактериальной ДНК проводят с использованием PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent, фирмы Applied Biosystems.

Наработка и секвенирование фрагмента генома казахстанских штаммов бактерии рода бруцелла.

Амплификация фрагментов ДНК гена бактерии бруцелла проведена на термоциклере «GeneAmp PCR 9700», фирмы «Applied Biosystems» и использованы праймеры с нуклеотидной последовательностью PF: 5'-CGCTCGAGTTCGATCACGCCGCAGGCAAAA-3' PR: 5'-CGCTCGAGTTCGATCACGCCGCAGGCAAAA-3', размер получаемого продукта 530 п.о.

Амплификацию проводят в 50 μ l, содержащих 5 μ l 10X ПЦР буфера (Qiagen), 1 μ l 10 mM dNTPs (NEB), 0,1 μ l ДНК, 1 μ l каждого праймера (20 pmol/ μ l), 0,25 μ l Taq DNA полимеразы (2,5 units, Qiagen). Условия амплификации: 94°C 5 мин; затем 30 циклов 94°C, 1 мин; 50°C, 1 мин; 72°C, 2 мин и 1 цикл 72°C, 7 мин.

Электрофорез в агарозном геле. Продукты были проанализированы путем разделения амплифицированной ДНК электрофорезом на 2 % агарозном геле в 1x Трис-борат-ЭДТА буфера (0,445 М Трис борат, pH 8,3, содержащие 0,01 М ЭДТА, Sigma-Aldrich) при 60 V в течение 50 мин.

Секвенирование ДНК. Для секвенирования сегментов генома рекомбинантного вируса гриппа использован метод дидеоксисеквенирования по Сенгеру на автоматическом 16-капиллярном секвенаторе Genetic Analyser 3130xl, Applied Biosystems. В качестве полимера для капилляров используют POP-7. Нарботку терминирующих продуктов ДНК проводят методом циклического секвенирования. Сущность данного метода заключается в использовании набора для секвенирования ДНК (ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit) фирмы Applied Biosystems в состав которого помимо полимераз (AmpliTag DNA polymerase), свободных нуклеотидов входит также смесь флуоресцентно меченых свободных олигонуклеотидов.

Результаты и обсуждение

В результате амплификации получены ПЦР продукты фрагмента гена, кодирующие белки Cu-Zn SOD казахстанских штаммов бактерии бруцелла размером 530 п.о.



Рисунок 1 – Электрофореграмма ПЦР продуктов фрагментов генов, кодирующие белки Cu-Zn SOD

Проведена экстракция фрагментов ДНК гена Cu-Zn SOD казахстанских штаммов бактерии бруцелла с помощью набора QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen), согласно инструкции к набору для дальнейшего их секвенирования. После экстракции проведено прямое секвенирование полученных продуктов с использованием набора BigDye Terminator v.3.1.

М – 1 kb Маркер, Invitrogen; 1 – *Brucella abortus* 0001/H; 2 – *Brucella abortus* 0002/H; 3 – *Brucella melitensis* 0003/H; 4 – *Brucella melitensis* 0004/H; 5 – *Brucella melitensis* 0005/H; 6 – *Brucella abortus* 0006/B; 7 – *Brucella abortus* 0007/B; 8 – *Brucella abortus* 0008/B; 9 – *Brucella abortus* 0009/X; 10 – *Brucella abortus* ЮКО 198 212 S-форма; 11 – *Brucella abortus* ЮКО 2535 S-форма; 12 – *Brucella abortus* ЮКО 198 767578 S-форма; 13 – *Brucella abortus* Алаколь 1 S-форма; 14 – *Brucella abortus* Алаколь 2 S-

форма; 15 – *Brucella abortus* Атырау 88 S-форма; 16 – *Brucella abortus* СКО S-форма; 17 – *Brucella abortus* 544, 7 пассаж S-форма

бруцелла с помощью набора QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen), согласно инструкции к набору для дальнейшего их секвенирования. После экстракции проведено прямое секвенирование полученных продуктов с использованием набора BigDye Terminator v.3.1.

Проведены исследования по сравнительному анализу нуклеотидных последовательностей участка гена Cu-Zn SOD казахстанских штаммов бактерии бруцелла с имеющимися данными международного банка генов.

Следующим шагом при изучении фрагмента гена Cu-Zn SOD казахстанских штаммов бактерии *Brucella abortus* и *Brucella melitensis* является проведение сравнительного анализа нуклеотидной последовательности секвенированного участка генома с имеющимися генами данной бактерии в Генбанке.

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей исследуемых генов проводили с помощью компьютерных программ Vector NTI Suite 9 и BLAST (на сайте NCBI).

Результаты исследований по выравниванию и сравнительному анализу фрагмента гена Cu-Zn SOD казахстанских штаммов бактерии бруцелла представлены на рисунке 2.

| | 242 | 250 | 260 | 270 | 280 | 290 | 300 | 310 | 320 | 330 | 340 | 350 | 360 | 370 |
|-----------------------------------|-----|----------|----------|--------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 0001/H Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| 0002/H Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| 0003/H Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| 0004/H Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| 0005/H Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| AE017224.1 Br.a str 9-941 Chrom.2 | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| Alkali1 Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| Alkali2 Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| Alysa08 Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| KD1 Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| CP000888.1 Br.a S19 Chrom.2 | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| CP003177.1 Br.a A13334 Chrom.2 | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| G398381.2 Br.a Iznagar Cu-Zn SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| UK0198212 Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| UK01987578 Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| UK02535 Br.a SOD | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |
| Consensus | 242 | GGGCTTTC | TGCTCCGG | CGGCGG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG | CGGATATG |

| | 347 | 350 | 360 | 370 | 380 | 390 | 400 | 410 | 420 | 430 | 440 | 450 | 460 | 470 | 480 |
|-----------------------------------|-----|----------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|-------|
| 0001/H Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| 0002/H Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| 0003/H Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| 0004/H Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| 0006/H Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| 0007/H Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| 0008/H Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| 0009/H Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| 544 Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| AE017224.1 Br.a str 9-941 Chrom.2 | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| Alkali1 Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| Alkali2 Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| Alysa08 Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| KD1 Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| CP000888.1 Br.a S19 Chrom.2 | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| CP003177.1 Br.a A13334 Chrom.2 | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| G398381.2 Br.a Iznagar Cu-Zn SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| UK0198212 Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| UK01987578 Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| UK02535 Br.a SOD | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |
| Consensus | 347 | ATGCTGAC | CGCAGG | TGAGTGA | AGCAGC | CGTTCT | TTGATG | TGCTCAT | TGCGGAG | GGGATAT | TATTCGG | TAAAGCT | TGAGCC | CTTGTG | TGCGG |

Рисунок 2 – Сравнительный анализ фрагмента последовательности гена Cu-Zn SOD различных штаммов бактерии рода *Brucella*, выделенных на территории Республики Казахстан

Сравнительный анализ нуклеотидной последовательности по гену Cu-Zn SOD показал, что штамм *Brucella abortus* 0002/Н относящийся к 3 биовару, выделенный в Жамбылской области, отличается от штамма *Brucella abortus* 0001/Н заменой нуклеотида А на G в позиции 393. Остальные штаммы *Brucella abortus*, выделенные в РК идентичны со

штаммами из Генбанка – *Brucella abortus*, str 9-941 (AE017223.1), *Brucella abortus*, str A13334 (CP003176.1), *Brucella abortus*, str S19 (CP000887.1) и *Brucella abortus* Cu-Zn SOD (GQ398381.2). Штаммы *Brucella melitensis* 0003/Н, *Brucella melitensis* 0004/Н, *Brucella melitensis* 0005/Н 3 биовара, выделенные в этой же области, отличаются от штаммов *Brucella abortus* заменой нуклеотидов А на G в позиции 300. Изучение молекулярно-генетических свойств кодирующего белка Cu-Zn SOD обладающего иммуногенными свойствами является актуальным решением при создании высокоэффективной противобруцеллезной вакцины.

В литературах встречаются данные о значительных протективных действиях фермента SOD. Например, SOD у *Brucella abortus* является Т-зависимым антигеном, который индуцирует пролиферацию Т-клеток и продукцию гамма-интерферона у инфицированных мышей [5]. Вакцинация мышей клетками *Escherichia coli*, экспрессирующего фермент Cu-Zn-SOD *B. abortus*, формировала существенную защиту против бруцелл [6]. Использование с этой же целью плазмидной ДНК, включающей ген Cu-Zn-SOD *Brucella abortus*, также индуцировало гуморальный и клеточный иммунный ответ против возбудителей бруцеллеза. Протективный эффект этой вакцинации был подобен с вакцинацией штаммом *Brucella abortus* RB51 [7].

Таким образом, антиоксидантные ферменты защищают микроорганизмы от окислительных субстратов, образующихся не только в

результате метаболических процессов, но и в процессе фагоцитоза фагоцитирующими клетками, и тем самым играют роль фактора патогенности.

Выводы

В данной работе были изучены молекулярно-генетические свойства кодирующего белка Cu-Zn SOD казахстанских штаммов бактерии бруцелла. По результатам исследования видно, что нуклеотидные последовательности гена Cu-Zn SOD штамма *Brucella abortus* 0002/Н, выделенный в Жамбылской области, отличается от штамма *Brucella abortus* 0001/Н нуклеотидной заменой А на G в позиции 393. Остальные штаммы *Brucella abortus*, выделенные в РК идентичны со штаммами из Генбанка. Штаммы *Brucella melitensis* 0003/Н, 0004/Н, и 0005/Н отличаются от штаммов *Brucella abortus* нуклеотидной заменой в позиции 300.

В настоящее время данный ген вызывает высокий интерес при конструировании эффективных и безопасных вакцин против бруцеллеза, так как, является иммуногенным и протективным.

Литературы

1. Bricker B.J., Tabatabai L.B., Judge B.A., Deyoe B.L., Mayfield A.E. Cloning, Expression, and Occurrence of the Brucella Cu-Zn Superoxide Dismutase // National Animal Disease Center, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, and Zoology Department, Iowa State University: American Society for Microbiology. – 1990. – P. 2935-2939.

2. Louisa B.T. and Steven G.H. Cattle Serologically Positive for Brucella abortus Have Antibodies to B. abortus Cu-Zn Superoxide Dismutase // Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. – 1994. – P. 506-510.

3. Курбанов А.И. Антиоксидантные ферменты микроорганизмов как потенциальные факторы патогенности // Международный медицинский журнал. – 2009. – №1. – С. 136-139.

4. Angel A. Onate, Sandra Cespedes, Alex Cabera, Rodolfo Ribers, Andrs Gonzalez, A DNA vaccine coding CU, Zn Superoxide Dismutase of Brucella abortus Induces Protective Immunity in BALB/c Mice // American Society for microbiology. – 2003. – Vol. 71, №9. – P. 4857-4861.

5. Gonzalez-smith A., Vemulapalli R., Andrews E., Onate A. Evaluation of brucella abortus DNA vaccine by expression of Cu-Zn superoxide dismutase antigen fused to Il-2 // Immunobiology. – 2006. –Vol. 211, № 1-2. – P. 65-74.

6. Onate A., Vemulapalli R., Andrews E. et al. Vaccination with live escherichia coli expressing brucella abortus Cu/Zn superoxide dismutase protects mice against virulent B. abortus // Inf. Immun. – 1999. – Vol. 67, № 2. – P. 986-988.

7. Onate A., Cespedes S., Cabrera A. et al. A DNA vaccine encoding Cu, Zn superoxide dismutase of brucella abortus induces protective immunity in balb // Inf. Immun. – 2003. – Vol. 71, № 9. – P. 4857-4861.

