

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің Ғылым жаршысы (пәнаралық) = Вестник науки Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина (междисциплинарный). - 2022. - №2 (113). – Ч. 2. – С. 146-155

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ *SAMPYLOBACTER JEJUNI* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

Мукантаев Канатбек Найзабекович

*Доктор биологических наук, доцент
Национальный центр биотехнологии, МЗ РК*

г. Нур-Султан, Казахстан

E-mail: mukantaev@biocenter.kz

Боровиков Сергей Николаевич

Кандидат биологических наук, и.о. профессора,

Казахский агротехнический университет

им. С.Сейфуллина, г. Нур-Султан, Казахстан

E-mail: nicsb_katu@mail.ru

Сыздыкова Альфия Сафиоллаевна

Магистр технических наук,

Казахский агротехнический университет

им. С.Сейфуллина, г. Нур-Султан, Казахстан

E-mail: halik.kz@mail.ru

Жахина Альфира Аблаевна

докторант PhD

Казахский агротехнический университет

им С.Сейфуллина» г. Нур-Султан, Казахстан

E-mail: alfira-magazumov@mail.ru

Аннотация

В статье описаны результаты работы по получению специфических поликлональных антител к рекомбинантным антигенам *Sampylobacter jejuni*, в качестве которых использованы ранее синтезированные белки внешней мембраны Omp18 и MOMP кампилобактерий. Определена оптимальная схема иммунизации подопытных животных, которая позволила стимулировать организм к выработке специфических антител против исходного антигена в высоких титрах. Тестирование методом ИФА позволило установить максимальные титры, к белку Omp18 - 1:102400, а к MOMP - 1:204800. Полученные антитела выделены из сыворотки и очищены методом хроматографии. Изучены их основные свойства, которые показали, что данные иммуноглобулины могут быть использованы при конструировании иммунохроматографического теста для экспресс-обнаружения

возбудителей кампилобактериоза в пищевых продуктах животного происхождения и других биологических объектах.

Ключевые слова: *Campylobacter jejuni*; кампилобактериоз; рекомбинантный антиген; специфические антитела; титр антител; диагностика; иммунохроматографический тест.

Введение

Инфекционное заболевание кампилобактериоз является одним из широко распространенных зоонозов в мире и основным возбудителем бактериальной инфекции у сельскохозяйственных животных и пищевого отравления у людей. Известно, что возбудители этой инфекции распространены повсеместно. Среди нескольких видов *Campylobacter* (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* и *C. upsaliensis*), способных вызывать заболевания у человека, *C. jejuni* чаще всего вызывает болезни пищевого происхождения, связанные с обсемененной продукцией животноводства [1, 2]. Помимо диарейных проявлений болезни описаны другие осложнения инфекции, такие как реактивный артрит, панкреатит, гепатит и кардит. Более того, некоторые штаммы *C. jejuni* способны стимулировать выработку антител, которые взаимодействуют с миелином периферических нервов, вызывая синдром Гийена-Барре [3].

Основными резервуарами инфекции являются дикие и домашние птицы, в первую очередь куры, домашние и сельскохозяйственные животные, в том числе крупный рогатый скот, овцы, свиньи, собаки, кошки (в особенности щенки и котята) [4, 5].

Повышенная устойчивость *C. jejuni* к антибиотикам и сложность предупреждения

диарейных заболеваний в последние годы усилили акцент на разработке экспресс - методов диагностики с целью сокращения циркуляции этой инфекции у сельскохозяйственных животных, и соответственно, в пищевых продуктах потребляемых людьми. По данным ВОЗ кампилобактериозом в мире ежегодно болеет до 550 миллионов человек [6, 7].

На сегодняшний день основным диагностическим тестом (предписание МЭБ) является бактериологический, однако, он требует специальных условий культивирования и дорогостоящих питательных сред. Для выявления возбудителя также используют полимеразно-цепную реакцию (ПЦР) и иммуноферментный анализ [8], но данные методы также требуют наличия дорогостоящего оборудования и специальных условий [9].

Учитывая тенденции по интенсификации сельскохозяйственного производства, есть потребность в наличии простых, быстрых и достоверных методов выявления зараженных животных и продуктов животноводства, одним из таких методов является иммунохроматографический анализ. Внедрение экспресс - метода в ветеринарную практику позволит сократить время анализа

(до 5-15 минут) и получить результаты с высокой степенью достоверности [10].

Для конструирования ИХА-теста используются три типа антител: подвижные моноклональные антитела к исследуемому антигену или антителу, с коллоидным золотом; поликлональные антитела к исследуемому антигену, жестко иммобилизованные в тест-зоне

Материалы и методы

В качестве антигена были использованы рекомбинантные белки внешней мембраны *C.jejuni* (Omp18 и MOMP32), полученные в лаборатории иммунохимии и иммунобиотехнологии Национального центра биотехнологии МОН РК.

В качестве лабораторных животных использованы кролики породы советская шиншилла, подобранные по методу аналогов (3 головы, самцы 6 месячного возраста, живой массой по 3 кг). Все процедуры, связанные с уходом за лабораторными животными, выполнялись в соответствии с Руководством по содержанию и уходу за животными: особые условия для лабораторных грызунов и кроликов (Межгосударственный стандарт, ГОСТ 33216-2014). Также, руководствовались Международными принципами для биомедицинских исследований с участием животных, 2012 г (*International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals*) и Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для

полоски и вторичные антитела к моноклональным антителам, жестко иммобилизованные в контрольной зоне тест-полоски. От качества каждого компонента зависит и достоверность теста.

Целью нашего исследования является получение поликлональных антител к рекомбинантным белкам внешней мембраны *Campylobacter jejuni* и изучение их свойств.

экспериментальных и других научных целей, 2005 г (*European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes*). Уход и использование лабораторных животных одобрены Комиссией по этике животных факультета Ветеринарии и технологии животноводства Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина (КАТУ).

Иммунизацию животных проводили подкожно, в 5 точек вдоль хребта с обеих сторон, вводили препарат в дозе 0,25 мл в каждую точку с соблюдением асептики. Инъекции проводили с использованием полного и неполного адьюванта Фрейнда (ПАФ и НАФ).

Отбор крови осуществляли из ушной вены. Исследование сывороток крови проводили в н-ИФА. Лунки полистиролового планшета (ThermoFisherScientific, США) сенсibilizировали отдельно белковыми антигенами *Omp18* и *MOMP*. После сенсibilизации и отмывки лунок активные центры твердой фазы

нейтрализовали 1% раствором бычьего сывороточного альбумина (BSA). Далее, в двух лунках готовили разведения сывороток крови иммунизированных животных в PBS-Тв, инкубировали в течение 1 часа и после отмывки планшета в лунки вносили анти-кроличьи IgG антитела, меченые пероксидазой хрена (Sigma-Aldrich США). Результаты реакции проявляли с помощью субстрата фермента. Реакцию считали положительной, если показатель оптической плотности исследуемой сыворотки (ОПис) в 2, и более раза превышал среднее значение оптической плотности контрольного образца (ОПко) в разведении 1:100. В качестве негативного контроля была использована сыворотка крови неиммунизированного кролика.

Очистку полученной сыворотки, с целью выделения

Результаты

С целью получения специфических поликлональных антител, на базе клиники факультета ветеринарии и технологии животноводства университета, была проведена иммунизация лабораторных животных рекомбинантными белками внешней мембраны *S.jejuni* (Omp18 и MOMP32) по схеме, представленной в таблице 1.

иммуноглобулинов класса G, проводили методом сульфатаммонийного высаливания, затем проводили диализ против 1×PBS (фосфатно-солевой буфер) и подвергали очистке на колонке HisTrap Protein G.

Электрофорез проводили в 12,5 % полиакриламидном геле (ПААГ) с использованием додецилсульфата натрия (SDS) на аппарате Mini-PROTEAN (Bio-Rad, США). Контролировали разделение белков с использованием молекулярных маркеров с молекулярной массой от 15-250 кДа. С целью визуализации белков ПААГ красили с помощью красителя Кумасси [11].

Активность и специфичность полученных поликлональных сывороток изучали с использованием гомологичных и различных гетерологичных антигенов.

Таблица 1 – Схема иммунизации подопытных животных

Срок иммунизации	I группа животных		II группа животных		Контрольная группа
	Концентрация антигена Omp18	Доза и состав	Концентрация антигена MOMP	Доза и состав	
1 день	250мкг/мл	750 мкл +ПАФ 750 мкл	250мкг/мл	750 мкл +ПАФ 750 мкл	-
14 день	250мкг/мл	750 мкл +НАФ 750 мкл	250мкг/мл	750 мкл +НАФ 750 мкл	-
28 день	Отбор крови для проведения тестирования на наличие антител				
28 день	250мкг/мл)	750 мкл +PBS 750	250мкг/мл	750 мкл + PBS 750 мкл	-

		МКЛ			
42 день	250мкг/мл	750 МКЛ + PBS 750 МКЛ	250мкг/мл	750 МКЛ + PBS 750 МКЛ	-
49 день	Тотальный отбор крови				

Как видно из таблицы 1, схема иммунизации предусматривала четырехкратное подкожное введение антигенов кроликам в концентрации 250 мкг/мл с полным и неполным

адьювантом Фрейда. Перед проведением третьей иммунизации у кроликов была отобрана кровь для проведения тестирования на наличие антител. Результаты тестирования показаны в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты тестирования сыворотки крови кроликов (28 день)

Титр	Omp 18			MOMP 32			
	1:100	1,170	1:25600	0,384	1:100	1,440	1:25600
1:200	0,961	1:51200	0,202	1:200	1,318	1:51200	0,151
1:400	0,887	1:102400	0,137	1:400	1,147	1:102400	0,122
1:800	0,863	1:204800	0,150	1:800	0,988	1:204800	0,112
1:1600	0,807	neg	0,076	1:1600	0,748	neg	0,082
1:3200	0,791	neg	0,049	1:3200	0,653	neg	0,123
1:6400	0,736	neg	0,044	1:6400	0,574	neg	0,174
1:12800	0,563	neg	0,035	1:12800	0,326	neg	0,091

Как видно из результатов тестирования, после использования данной схемы иммунизации подопытных животных, удалось стимулировать их иммунную систему к выработке специфических иммуноглобулинов. На 28 день с момента начала иммунизации у кроликов первой и второй групп выявлены специфические антитела к исходным антигенам. Максимальный титр антител в сыворотке крови кролика, иммунизированного рекомбинантным антигеном Omp

18, составил 1:51200, а у кролика иммунизированного антигеном MOMP 32 был несколько ниже, 1:25600. Полученные данные доказывают факт высокой иммуногенности использованных рекомбинантных белков.

После завершения иммунизации был проведен тотальный отбор крови и осуществлено повторное тестирование сыворотки крови методом иммуноферментного анализа. Результаты тестирования приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты повторного тестирования сыворотки крови (49 день)

Титр	Omp 18			MOMP 32			
	1:100	2,364	1:25600	0,640	1:100	1,718	1:25600

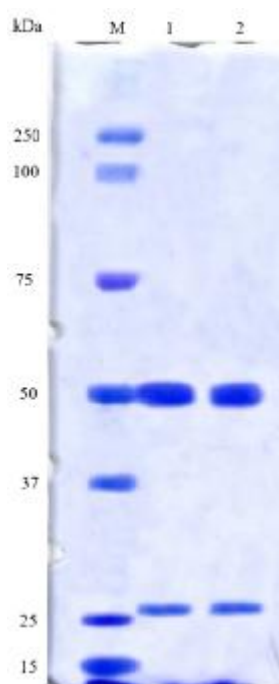
1:200	1,680	1:51200	0,444	1:200	1,679	1:51200	0,315
1:400	1,266	1:102400	0,378	1:400	1,690	1:102400	0,225
1:800	1,101	1:204800	0,255	1:800	1,580	1:204800	0,109
1:1600	0,947	neg	0,112	1:1600	0,896	neg	0,093
1:3200	0,830	neg	0,090	1:3200	0,719	neg	0,028
1:6400	0,790	neg	0,022	1:6400	0,685	neg	0,011
1:12800	0,669	neg	0,004	1:12800	0,467	neg	0,006

Как видно из данных, полученных в результате повторного тестирования, в сыворотке крови иммунизированных животных титры специфических антител к исходному антигену значительно увеличились. Максимальные значения титров антител к рекомбинантным белкам внешней мембраны *S. jejuni* (Omp18 и MOMP32), находились в диапазоне от 1:102 400 до 1:204 800, соответственно. Динамика накопления иммуноглобулинов в процессе проведения данного опыта наглядно доказывает эффективность использования длительной схемы иммунизации. Повторные тестирования

полученной сыворотки показали неизменность титров иммуноглобулинов в обоих случаях.

Сыворотку крови с целью выделения иммуноглобулинов класса G высаливали насыщенным раствором сульфата аммония и проводили обессоливание путем диализа против 1×PBS. Дальнейшую очистку проводили с использованием хроматографических колонок HisTrap Protein G. В результате хроматографической очистки были получены отдельные фракции иммуноглобулинов (пики), которые собирали и проверяли их чистоту путем проведения электрофореза (рисунок 1).

Рисунок 1 – Результаты электрофоретического анализа



Примечание: М-молекулярные маркеры; 1-Фракция иммуноглобулинов к антигену Omp18; 2- Фракция иммуноглобулинов к антигену MOMP32.

По результатам электрофоретического анализа можно сделать вывод, что полученные поликлональные антитела удалось очистить от всех балластных веществ, это подтверждается представленной электрофореграммой. Молекулярная масса полученных иммуноглобулинов класса G составляет 50 кДа, что соответствует многочисленным литературным данным.

Следующим этапом исследований было изучение активности и специфичности полученных поликлональных антител против рекомбинантных белков *S.jejuni*. Для этого проводили постановку иммуноферментного анализа с использованием гомологичных и доступных гетерологичных антигенов (таблица 4).

Таблица 4 – Изучение активности и специфичности ПКА

Название антигена	ПКА к антигену Omp18, титры	ПКА к антигену MOMP32, титры
Рекомбинантный антиген Omp18	1:204800	1:12 800
Рекомбинантный антиген MOMP32	1:12 800	1:102400
Рекомбинантный антиген Бруцелла (Omp19)	1:200	1:100
Рекомбинантный антиген Бруцелла (Omp25)	1:100	1:100
УЗДН <i>Salmonella enterica</i>	1:100	PO
БВМ <i>Salmonella enterica</i>	PO	PO
БВМ <i>Listeria monocytogenes</i>	PO	PO

Как видно из таблицы 4, при проведении иммуноферментного анализа, поликлональные антитела подтвердили взаимодействие с исходными антигенами в максимальных титрах. В тоже время взаимодействия с другими антигенами в диагностических титрах не наблюдалось. Полученные данные наглядно подтверждают высокую активность и специфичность испытуемых иммуноглобулинов.

Обсуждение

В последние годы кампилобактериоз приобретает значение как пищевая токсикоинфекция и является одной из основных причин болезней желудочно-кишечного тракта у людей. При этом основным источником заражения является возбудитель *S.jejuni*, циркулирующий у животных и обсеменяющий продукцию животноводства при убое и разделке туш.

Основным диагностическим тестом этой инфекции является бактериологический, однако, он требует специальных условий культивирования и дорогостоящих питательных сред, также в диагностике кампилобактериоза применяют ПЦР и иммуноферментный анализ [5]. Однако их использование требует наличия оборудования и специальных условий. Неспецифичность клинических признаков болезни, недостаточная чувствительность и эффективность бактериологических методов диагностики негативно сказываются на терапии инфекции. Современные иммунохимические методы, такие как ИФА и ИХА эффективно решают существующие в диагностике кишечных инфекций проблемы. Однако, данные методы

диагностики требуют применения высокоспецифичных и высокоактивных антигенов и антител. Разработка ИХА-теста для выявления возбудителя кампилобактериоза в биологическом материале и продуктах животноводства, является менее затратным и быстрым способом, используемым в полевых условиях. Метод основан на использовании МКА к антигенным детерминантам возбудителя, в этом случае большое значение приобретает качество антигена, используемого для иммунизации.

Достижения в области генной инженерии позволили изучить возможность использования рекомбинантных белков в качестве антигенов. Так, в доступной литературе описаны случаи использования рекомбинантных антигенов при разработке диагностических методов обнаружения возбудителей *Campylobacter* [12,13]. Кроме того, имеются сведения об успешном получении моноклональных антител к рекомбинантным антигенам *S.jejuni*, и использование их с целью диагностики данной инфекции [14,15].

Таким образом, использование синтезированных

рекомбинантных антигенов с целью получения поликлональных и моноклональных антител, позволяет получать высокоспецифические компоненты для конструирования

Заключение

В результате проведенных исследований доказана иммуногенность полученных ранее рекомбинантных антигенов внешней мембраны *Campylobacter jejuni*, поскольку иммунизация подопытных животных позволила стимулировать их иммунную систему к выработке специфических антител.

Использование описанной схемы иммунизации подопытных животных можно применять для получения специфических поликлональных антител. Максимальные значения титров антител к рекомбинантным белкам внешней мембраны *C.jejuni* (Omp18 и MOMP32), находились в диапазоне от 1:102 400 до 1:204 800, соответственно.

Проверены активность и специфичность полученных

Информация о финансировании

Данное исследование финансируется Министерством сельского хозяйства Республики Казахстан по программе №BR10764944

диагностических тестов, что влияет на повышение качества и стандартизацию анализа по сравнению с нативными антигенными препаратами.

поликлональных антител с использованием гомологичных и доступных гетерологичных антигенов. Активность ПКА против исходных антигенов (Omp18 и MOMP32) была очень высокой, при этом перекрестных реакций против гетерологичных антигенов в диагностических титрах не отмечалось. Таким образом, доказана высокая активность и специфичность полученных поликлональных сывороток.

Учитывая вышеизложенное, можно рекомендовать использование полученных поликлональных сывороток как компонент для конструирования ИХА теста для диагностики *Campylobacter jejuni* у животных и обнаружения возбудителей инфекции в продуктах животного происхождения.

Список литературы

1 Qu M., Zhang M., Zhang X., Jia L., Xu J., Chu Y., Liang Z., Lu B., Liang H., Huang Y., Wang Q. Molecular and epidemiological analysis of a *Campylobacter jejuni* outbreak in China //J.Infect.Dev.Ctries. – 2018. – Vol. 13. – P.1086-1094.

2 Salihu M.D., Abdulkadir J.U., Oboegbulem S.I., Egwu G.O., Magaji A.A., Lawal M., Hassan Y. Isolation and prevalence of *Campylobacter* species in cattle from Sokoto state Nigeria //VeterinariaItaliana. – 2009. – Vol. 45. – P. 501-505.

3 Di Giannatale E., Calistri P., DiDonato G., Decastelli L., Goffredo E., Adriano D., Mancini M.E., Galleggiante A., Neri D., Antoci S., Marfoglia C., Marotta F., Nuvoloni R., Migliorati G. Thermotolerant *Campylobacter* spp. in

chicken and bovinemeat in Italy: Prevalence, level of contamination and molecular characterization of isolates //PloSOne. –2019. – Vol. 14. – P. 22-595.

4 Little C., Richardson J., Owen R., De Pinna E., Threlfall E. Campylobacter and Salmonella in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization, and antimicrobial resistance pattern, 2003–2005 // Food Microbiol. -2008. – Vol. 25. – P.538–543.

5 Rodgers J.D., Simpkin E., Lee R., Clifton-Hadley F.A., Vidal A.B. Sensitivity of DirectCulture, Enrichment and PCR for Detection of Campylobacter jejuni and C. coli in Broiler Flocks at Slaughter //Zoonoses Public Health. –2017. – Vol. 64. – P. 262-271.

6 Gürtürk K., Ekin I.H., Aksakal A., Solmaz H. Detection of Campylobacter antibodies in sheep sera by a Dot-ELISA using acid extracts from C. fetus ssp. fetus and C. jejuni strains and comparison with a complement fixation test //J.Vet.Med. B Infect Dis Vet Public Health. –2002. – Vol. 49. – P.51-146.

7 Longbottom D, Fairley S, Chapman S, Psarrou E, Vretou E, Livingstone M. Serological Diagnosis of Ovine Enzootic Abortion by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with a Recombinant Protein Fragment of the Polymorphic Outer Membrane Protein POMP90 of Chlamydia abortus //Journal of clinical microbiology. – 2002. – Vol. 40. – P. 4235–4243.

8 Burnens A., Stucki U., Nicolet J., Frey J. Identification and Characterization of an Immunogenic Outer Membrane Protein of Campylobacter jejuni //Journal of Clinical Microbiology. – 1995. – Vol.33, No.11. – P.2826-2832.

9 Pavlova M., Velez V., Dobrev E., Asseva G., Ivanov I., Tomova I., Kantardjiev T Advantages of EVA green real-time mPCR with culture and immunochromatographic methods for differentiating C. Jejuni/Coli directly from feces // ActaMedicaMediterranea. – 2018. –Vol.34. – P.1027-1030

10 Xu D Wu X Li B Li P Ming X Chen T Wei H Xu F Rapid detection of Campylobacter jejuni using fluorescent microspheres as label for immunochromatographic strip test // Food Science and Biotechnology. – 2013. – Vol.22. – P.585-591.

11 Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – Vol.227. – P.680-685.

12 Schmidt-Ott R., Brass F., Scholz Ch., Werner C., Groß U. Improved serodiagnosis of Campylobacter jejuni infections using recombinant antigens // Journal of Medical Microbiology. – 2005. – Vol.54. – P.761-767.

13 Stucki U., Frey J., Nicolet J., Burnens A.P. Identification of Campylobacter jejuni on the Basis of a Species-Specific Gene That Encodes a Membrane Protein // Journal Of Clinical Microbiology. – 1995. – Vol.33, No. – P.855-859.

14 Qian H., Pang E., Du Q., Chang J., Dong J., Toh S.L., Ng F.K., Tan A.T., Kwang J. Production of a Monoclonal Antibody Specific for the Major Outer Membrane Protein of Campylobacter jejuni and Characterization of the Epitope// Applied And Environmental Microbiology.– 2008. – Vol.74, No.3. – P.833-839.

15 Islam A., Raghupathy R., Albert M.J. Recombinant PorA, the Major Outer Membrane Protein of Campylobacter jejuni, Provides Heterologous

Protection in an Adult Mouse Intestinal Colonization Model // *Clinical and Vaccine Immunology*. – 2010. – Vol.17, No.11. – P.1666-1671.

References

1 Qu M., Zhang M., Zhang X., Jia L., Xu J., Chu Y., Liang Z., Lu B., Liang H., Huang Y., Wang Q. Molecular and epidemiological analysis of a *Campylobacter jejuni* outbreak in China // *J.Infect.Dev.Ctries*. – 2018. – Vol. 13. – P.1086-1094.

2 Salihu M.D., Abdulkadir J.U., Oboegbulem S.I., Egwu G.O., Magaji A.A., Lawal M., Hassan Y. Isolation and prevalence of *Campylobacter* species in cattle from Sokoto state Nigeria // *Veterinaria Italiana*. – 2009. – Vol. 45. – P. 501-505.

3 Di Giannatale E., Calistri P., DiDonato G., Decastelli L., Goffredo E., Adriano D., Mancini M.E., Galleggiante A., Neri D., Antoci S., Marfoglia C., Marotta F., Nuvoloni R., Migliorati G. Thermotolerant *Campylobacter* spp. in chicken and bovine meat in Italy: Prevalence, level of contamination and molecular characterization of isolates // *PloS One*. – 2019. – Vol. 14. – P. 22-595.

4 Little C., Richardson J., Owen R., De Pinna E., Threlfall E. *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization, and antimicrobial resistance pattern, 2003–2005 // *Food Microbiol.* – 2008. – Vol. 25. – P.538–543.

5 Rodgers J.D., Simpkin E., Lee R., Clifton-Hadley F.A., Vidal A.B. Sensitivity of DirectCulture, Enrichment and PCR for Detection of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in Broiler Flocks at Slaughter // *Zoonoses Public Health*. – 2017. – Vol. 64. – P. 262-271.

6 Gürtürk K., Ekin I.H., Aksakal A., Solmaz H. Detection of *Campylobacter* antibodies in sheep sera by a Dot-ELISA using acid extracts from *C. fetus* ssp. *fetus* and *C. jejuni* strains and comparison with a complement fixation test // *J.Vet.Med. B Infect Dis Vet Public Health*. – 2002. – Vol. 49. – P.51-146.

7 Longbottom D, Fairley S, Chapman S, Psarrou E, Vretou E, Livingstone M. Serological Diagnosis of Ovine Enzootic Abortion by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with a Recombinant Protein Fragment of the Polymorphic Outer Membrane Protein POMP90 of *Chlamydia abortus* // *Journal of clinical microbiology*. – 2002. – Vol. 40. – P. 4235–4243.

8 Burnens A., Stucki U., Nicolet J., Frey J. Identification and Characterization of an Immunogenic Outer Membrane Protein of *Campylobacter jejuni* // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1995. – Vol.33, No.11. – P.2826-2832.

9 Pavlova M., Velez V., Dobrova E., Asseva G., Ivanov I., Tomova I., Kantardjiev T Advantages of EVA green real-time mPCR with culture and immunochromatographic methods for differentiating *C. Jejuni/Coli* directly from feces // *Acta Medica Mediterranea*. – 2018. – Vol.34. – P.1027-1030

10 Xu D Wu X Li B Li P Ming X Chen T Wei H Xu F Rapid detection of *Campylobacter jejuni* using fluorescent microspheres as label for immunochromatographic strip test // *Food Science and Biotechnology*. – 2013. – Vol.22. – P.585-591.

11 Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. – 1970. – Vol.227. – P.680-685.

12 Schmidt-Ott R., Brass F., Scholz Ch., Werner C., Groß U. Improved serodiagnosis of *Campylobacter jejuni* infections using recombinant antigens // Journal of Medical Microbiology. – 2005. – Vol.54. – P.761-767.

13 Stucki U., Frey J., Nicolet J., Burnens A.P. Identification of *Campylobacter jejuni* on the Basis of a Species-Specific Gene That Encodes a Membrane Protein // Journal Of Clinical Microbiology. – 1995. – Vol.33, No. – P.855-859.

14 Qian H., Pang E., Du Q., Chang J., Dong J., Toh S.L., Ng F.K., Tan A.T., Kwang J. Production of a Monoclonal Antibody Specific for the Major Outer Membrane Protein of *Campylobacter jejuni* and Characterization of the Epitope// Applied And Environmental Microbiology.– 2008. – Vol.74, No.3. – P.833-839.

15 Islam A., Raghupathy R., Albert M.J. Recombinant PorA, the Major Outer Membrane Protein of *Campylobacter jejuni*, Provides Heterologous Protection in an Adult Mouse Intestinal Colonization Model // Clinical and Vaccine Immunology. – 2010. – Vol.17, No.11. – P.1666-1671.

**ТЕЛІМДІ ПОЛИКЛОНАЛДЫ АНТИДЕНЕЛЕДІ АЛУ ҮШІН
САМПУЛОБАСТЕР JEJUNI РЕКОМБИНАНТТЫ АНТИГЕНДЕРІН
ҚОЛДАНУ**

Мұқантаев Қанатбек Найзабекұлы

*Биология ғылымдарының докторы, доцент
ҚР ДСМ, Ұлттық биотехнология орталығы*

Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан

E-mail: mukantaev@biocenter.kz

Боровиков Сергей Николаевич

*Биология ғылымдарының кандидаты, профессордың м.а.,
С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті,*

Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан

E-mail: nicsb_katu@mail.ru

Сыздыкова Альфия Сафиоллақызы

Техника ғылымдарының магистрі,

С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті,

Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан

E-mail: halik.kz@mail.ru

Жахина Альфира Аблаевайқызы

докторант PhD

С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті,

Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан

E-mail: alfira-magazumov@mail.ru

Түйін

Мақалада *Campylobacter jejuni* рекомбинантты антигендеріне спецификалық поликлоналды антиденелердің өндірілуі туралы деректер келтірілген, олар бұрын *Campylobacter* сыртқы мембранасының Omp18 және MOMP ақуыздары синтезделген. Тәжірибелік жануарларды иммунизациялаудың оңтайлы схемасы анықталды, ол жоғары титрлерде бастапқы антигенге қарсы спецификалық антиденелерді шығару үшін организмді ынталандыруға мүмкіндік берді. ELISA сынағы Omp18 протеиніне - 1:102400 және MOMP - 1:204800 үшін максималды титрлерді анықтауға мүмкіндік берді. Алынған антиденелер сарысудан бөлініп, хроматография арқылы тазартылды. Олардың негізгі қасиеттері зерттелді, бұл иммуноглобулиндер жануарлардан алынатын тамақ өнімдерінде және басқа да биологиялық объектілерде кампилобактериоз қоздырғыштарын жылдам анықтау үшін иммунохроматографиялық сынаманы жобалауда қолдануға болатынын көрсетті.

Кілт сөздер: *Campylobacter jejuni*; кампилобактериоз; рекомбинантты антиген; телімді антиденелер; антиденелер титрі; балау; иммунохроматографиялық тест.

THE USE OF RECOMBINANT CAMPYLOBACTER JEJUNI ANTIGENS FOR THE PRODUCTION OF SPECIFIC POLYCLONAL ANTIBODIES

Mukantaev Kanatbek Naizabekovich

*Doctor of Biological Sciences, Associate Professor
National Center for Biotechnology, Ministry of Health of the
Republic of Kazakhstan Nur-Sultan, Kazakhstan
E-mail: mukantaev@biocenter.kz*

Borovikov Sergey Nikolaevich

*Candidate of Biological Sciences, acting professor
S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University
Nur-Sultan, Kazakhstan
E-mail: nicsb_katu@mail.ru*

*Syzdykova Alfiya Safiollaevna
Master of Technical science,*

*S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University
Nur-Sultan, Kazakhstan
E-mail: halik.kz@mail.ru
Zhahina Alfira Ablaevna*

PhD student

*S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University
Nur-Sultan, Kazakhstan*

E-mail: alfira-magazumov@mail.ru

Abstract The article presents data on the production of specific polyclonal antibodies to recombinant antigens of *Campylobacter jejuni*, which were previously synthesized proteins of the outer membrane Omp18 and MOMP of *Campylobacter*. The optimal scheme for immunization of experimental animals was determined, which made it possible to stimulate the body to produce specific antibodies against the original antigen in high titers. ELISA testing made it possible to establish the maximum titers, to the Omp18 protein - 1:102400, and to MOMP - 1:204800. The resulting antibodies were isolated from serum and purified by chromatography. Their main properties were studied, which showed that these immunoglobulins can be used in the design of an immunochromatographic test for the rapid detection of campylobacteriosis pathogens in food products of animal origin and other biological objects.

Keywords: *Campylobacter jejuni*; campylobacteriosis; recombinant antigen; specific antibodies; antibody titer; diagnostics; immunochromatographic test.